نشریه علمی
علـوم باغبـانی
(علوم و صنایع کشاورزی)

شاپا: ۲۰۰۸-۴۷۳۰

دانشگاه فردوسی مشهد
Ferdowsi University of Mashhad

جلد ۳۶ شماره ۱
سال ۱۴۰۱

Vol. 36 No. 1
2022

شماره پیاپی ۵۳

عنوان مقالات

بررسی انبارمانی توده‌های پیاز خوراکی (*Allium cepa* L.) بومی افغانستان در دو شرایط دمایی..... ۳
سید علی یعقوبی- حسین نعمتی- مجید عزیزی- محمود شور

ارزیابی قابلیت جایگزینی و مقایسه خصوصیات رشدی و کیفی چمن‌های شبدری با چمن‌های گراسی رایج در فضای سبز به منظور کاهش هزینه‌های سرزنی ۱۷
الهام سعیدی پویا- علی تهرانی فر- غلامعلی گزانچیان- فاطمه کاظمی- محمود شور

بررسی خصوصیات مورفو- فیزیولوژیکی نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) تحت تأثیر منابع کربنی اتانول و متانول..... ۳۱
وحید اکبرپور- مصطفی مطهری‌نژاد- محمدعلی بهمنیار

تأثیر تیمارهای ویتامین C و B بر عملکرد قارچ تکمه‌ای و عمر پس از برداشت آن..... ۴۵
سعید خسروی- مریم حقیقی- منیره محنت‌کش

اثر ترکیب هورمونی اکسین و سیتوکینین بر ریزازدیادی گیاه سوسن شرقی (*Lilium* oriental hybrid 'Casablanca') با استفاده از ریزنمونه‌ی فلس پیاز ۵۹
نیما جواهری- بهزاد کاویانی

نقش ملاتونین بر خصوصیات پس از برداشت میوه گیلاس رقم 'سیاه مشهد' طی دوره انبارمانی..... ۷۳
بهاره قربانی- رقیه نجف زاده

ارزیابی خصوصیات فنولوژیک، مورفولوژیک و پومولوژیک برخی از ارقام و ژنوتیپ‌های شلیل در شرایط اقلیمی استان خراسان رضوی..... ۸۹
آمنه قهرمانی- ابراهیم گنجی مقدم- علی مرجانی

تاثیر تنش آبی بر برخی صفات مورفولوژی و فیزیولوژی دانهال ژنوتیپ‌های طبیعی مرکبات..... ۱۰۵
رضا فیفائی- حسین طاهری- یحیی تاجور- اسماعیل غلامیان

اثر عصاره الکلی بره‌موم و هیدروکولینگ بر برخی صفات پس از برداشت خیار گلخانه‌ای (*Cucumis sativus*)..... ۱۱۹
وحید انیسی- یحیی سلاح ورزی- مریم کمالی- بهرام عابدی

اثرتنش آبی بر صفات فیزیولوژیک و فیتوشیمیایی گیاه دارویی خارمریم (*Silybum marianum* L.)..... ۱۳۷
راحله قنبری محب سراج- مهدی بهنامیان- اسدالله احمدی خواه- وحید شریعتی- سارا دژستان

ارزیابی تنوع برخی از شاخص‌های فیتوشیمیایی و اثرات ضدباکتریایی در عصاره ارقام ایرانی گل داوودی (*Dendranthema morifolium* Ramat.)..... ۱۵۱
شیرین تقی پور- عبداله احتشام‌نیا- حامد خدایاری- حسن مومیوند

تأثیر اسید جیبرلیک و پوترسین بر رشد، گلدهی و عمر گلجای گل شاخه بریده سوسن رقم 'Lesotho'..... ۱۶۵
مریم حجتی پور- معظم حسن‌پور اصیل

ارزیابی تنوع ژنتیکی برخی از ژنوتیپ‌های زرشک وحشی (*Berberis* spp.) در استان‌های البرز و تهران با استفاده از نشانگرهای ریخت‌شناسی و میوه‌شناسی..... ۱۷۹
محی الدین پیرخضری

تأثیر پوترسین و نیتریک‌اکسید بر بهبود ویژگی‌های مورفولوژیکی، بیوشیمیایی و پس‌ازبرداشت رز رقم 'آوالانچ'..... ۱۹۵
رقیه عبدی- زهره جبارزاده

ادامه فهرست داخل جلد

نشریه علمی علوم باغبانی جلد ۳۶ شماره ۱ سال ۱۴۰۱ 2022 Vol. 36 No. 1 Journal of Horticultural Science

Journal of Horticultural Science
(Agricultural Science and Technology)

ISSN:2008-4730

Contents

Study on Storability of Afghan Local Onions (*Allium cepa* L.) at Two Thermal Conditions..... 1
S.A. Yaqoobi, H. Nemati, M. Azizi, M. Shoor

Evaluation of the Replacement Ability and Comparison the Growth and Quality Characteristics of Clover Lawn with Common Grass Lawn in Landscape to Reduce the Mowing Costs 15
E. Saeedipooya, A. Tehranifar, Gh.A. Gazanchian, F. Kazemi, M. Shoor

Investigation of Morpho-Physiological Properties of Peppermint (*Mentha piperita* L.) Affected by Carbon Sources of Ethanol and Methanol 29
V. Akbarpour, M. Motaharinezhad, M.A. Bahmanyar

The Effect of Vitamin C and B Treatments on Button Mushroom Yield and Postharvest Life 43
S. Khosravi, M. Haghighi, M. Mehnatkesh

Effect of Hormonal Combination of Auxin and Cytokinin on Micropropagation of Eastern Lily (*Lilium* oriental hybrid 'Casablanca') Plant Using Bulb Scale Explant..... 57
N. Javaheri, B. Kaviani

The Role of Melatonin on Postharvest Properties of Sweet Cherry Fruit cv. Siah Mashhad during Storage..... 71
B. Ghorbani, R. Najafzadeh

Evaluation of Phonological, Morphological, and Pomological Characteristics of Some Nectarine Cultivars and Genotypes under Khorasan Razavi Province Climatic Conditions 87
A. Ghahramani - E. Ganji-Moghadam - A. Marjani

Effect of Water Stress on some Morphological and Physiological Characteristics of *Citrus* Natural Genotypes Seedling..... 103
R. Fifaei, H. Taheri, Y. Tajvar, E. Gholamian

The Effect of Alcoholic Extract of Propolis and Hydro Cooling on Some Postharvest Characteristics of *Cucumis sativus* 117
V. Anisi, Y. Selahvarzi, M. Kamali, B. Abedi

Effect of Drought Stress on Physiological and Phytochemical Traits of *Silybum marianum* L..... 135
R. Ghanbari Moheb Seraj, M. Behnamian, A. Ahmadikhah, V. Shariati, S. Dezhsetan

Evaluation of Diversity in some Phytochemical Characteristics and Antibacterial Effects of Extract of Iranian Cultivars of Chrysanthemum (*Dendranthema morifolium* Ramat.) 149
Sh. Taghipour, A. Ehtesham Nia, H. Khodayari, H. Mumivand

Effect of Gibberellic Acid and Putrescine on Growth, Flowering and Vase Life of Lily Cut Flower ('Lesotho') 163
M. Hojjatipour, M. Hassanpour Asil

Investigation of Genetic Diversity of Some Wild Barberry Genotypes (*Berberis* spp.) in Alborz and Tehran Provinces Using Morpho-pomological Markers..... 177
M. Pirkhezri

Effect of Putrescine and Nitric Oxide on Morphological, Biochemical and Postharvest Characteristics of Rose 'Avalanche' 193
R. Abdi- Z. Jabbarzadeh

Continue Content in cover

نشریه علوم باغبانی

(علوم و صنایع کشاورزی)

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

جلد 36 شماره1 بهار 1401

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

صاحب امتیاز: دانشگاه فردوسی مشهد

مدیر مسئول: رضا ولی زاده — استاد – تغذیه نشخوارکنندگان (دانشگاه فردوسی مشهد)

سردبیر: علی تهرانی فر — استاد- علوم باغبانی ومهندسی فضای سبز (دانشگاه فردوسی مشهد)

اعضای هیئت تحریریه:

آرویی، حسین	دانشیار- علوم باغبانی ومهندسی فضای سبز (دانشگاه فردوسی مشهد)
توکل افشاری، رضا	استاد- فیزیولوژی بذر(دانشگاه فردوسی مشهد)
تهرانی فر، علی	استاد- علوم باغبانی ومهندسی فضای سبز (دانشگاه فردوسی مشهد)
شور، محمود	دانشیار- علوم باغبانی ومهندسی فضای سبز (دانشگاه فردوسی مشهد)
حقیقی، مریم	دانشیار- علوم باغبانی (دانشگاه صنعتی اصفهان)
خانی زاده، شاهرخ	پژوهشگر - موسسه کشاورزی و غذا اوتاوا کانادا
داوری نژاد، غلامحسین	استاد- علوم باغبانی ومهندسی فضای سبز (دانشگاه فردوسی مشهد)
راحمی، مجید	استاد - علوم باغبانی (دانشگاه شیراز)
زمانی، ذبیح اله	استاد - علوم باغبانی (دانشگاه تهران)
شریفانی، محمد مهدی	دانشیار- علوم باغبانی (دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان)
عزیزی، مجید	استاد- گیاهان دارویی (دانشگاه فردوسی مشهد)
عبادی، علی	استاد- علوم باغبانی (دانشگاه تهران)
فلاحی، اسماعیل	استاد- گروه علوم باغبانی دانشگاه آیداهوی آمریکا
فارسی، محمد	استاد- ژنتیک واصلاح نباتات (دانشگاه فردوسی مشهد)
کافی، محسن	استاد- گلکاری ومهندسی فضای سبز (دانشگاه تهران)
لاهوتی، مهرداد	استاد- فیزیولوژی گیاهی (دانشگاه فردوسی مشهد)

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 سایتhttps://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.

بسم الله الرحمن الرحیم

مندرجات

بررسی انبارمانی توده‌های پیاز خوراکی (*Allium cepa* L.) بومی افغانستان در دو شرایط دمایی 3

سید علی یعقوبی– حسین نعمتی - مجید عزیزی - محمود شور

ارزیابی قابلیت جایگزینی و مقایسه خصوصیات رشدی و کیفی چمن‌های شبدری با چمن‌های گراسی رایج در فضای سبز به منظور کاهش هزینه‌های سرزنی 17

الهام سعیدی پویا - علی تهرانی فر - غلامعلی گزانچیان - فاطمه کاظمی - محمود شور

بررسی خصوصیات مورفو- فیزیولوژیکی نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) تحت تأثیر منابع کربنی اتانول و متانول 31

وحید اکبرپور - مصطفی مطهری‌نژاد - محمدعلی بهمنیار

تأثیر تیمارهای ویتامین C و B بر عملکرد قارچ تکمه‌ای و عمر پس از برداشت آن 45

سعید خسروی - مریم حقیقی - منیره محنت‌کش

اثر ترکیب هورمونی اکسین و سیتوکینین بر ریزازدیادی گیاه سوسن شرقی (*Lilium* oriental hybrid 'Casablanca') با استفاده از ریزنمونه‌ی فلس پیاز 59

نیما جواهری - بهزاد کاویانی

نقش ملاتونین بر خصوصیات پس از برداشت میوه گیلاس رقم 'سیاه مشهد' طی دوره انبارمانی 73

بهاره قربانی - رقیه نجف زاده

ارزیابی خصوصیات فنولوژیک، مورفولوژیک و پومولوژیک برخی از ارقام و ژنوتیپ‌های شلیل در شرایط اقلیمی استان خراسان رضوی 89

آمنه قهرمانی - ابراهیم گنجی مقدم - علی مرجانی

تاثیر تنش آبی بر برخی صفات مورفولوژی و فیزیولوژی دانهال ژنوتیپ‌های طبیعی مرکبات 105

رضا فیفائی - حسین طاهری - یحیی تاجور - اسماعیل غلامیان

اثر عصاره الکلی بره‌موم و هیدروکولینگ بر برخی صفات پس از برداشت خیار گلخانه‌ای (*Cucumis sativus*) 119

وحید انیسی - یحیی سلاح ورزی– مریم کمالی - بهرام عابدی

اثرتنش آبی بر صفات فیزیولوژیک و فیتوشیمیایی گیاه دارویی خارمریم (*Silybum marianum* L.) 137

راحله قنبری محب سراج - مهدی بهنامیان - اسدالله احمدی خواه - وحید شریعتی - سارا دژستان

ارزیابی تنوع برخی از شاخص‌های فیتوشیمیایی و اثرات ضدباکتریایی در عصاره ارقام ایرانی گل داوودی (*Dendranthema morifolium* Ramat.) 151

شیرین تقی پور - عبداله احتشام‌نیا - حامد خدایاری - حسن مومیوند

تأثیر اسید جیبرلیک و پوترسین بر رشد، گلدهی و عمر گلجای گل شاخه بریده سوسن رقم'Lesotho' 165

مریم حجتی پور - معظم حسن‌پور اصیل

ارزیابی تنوع ژنتیکی برخی از ژنوتیپ‌های زرشک وحشی (*Berberis* spp.) در استان‌های البرز و تهران با استفاده از نشانگرهای ریخت‌شناسی و میوه‌شناسی 179

محی الدین پیرخضری

تأثیر پوترسین و نیتریک‌اکسید بر بهبود ویژگی‌های مورفولوژیکی، بیوشیمیایی و پس‌ازبرداشت رز رقم 'آوالانچ' 195

رقیه عبدی - زهره جبارزاده
تأثیر سلنیوم و نانوذره آهن بر رشد و عملکرد شعمدانی عطری تحت تنش شوری کلریدسدیم 215
لمیا وجودی مهربانی - یعقوب انوری قشلاق - علی‌رضا مطلبی آذر
تولید پایدار محصول بِه با کاربرد محرک‌زیستی فولویک اسید و کلسیم 231
علی اکبر شکوهیان - سمیه محمدی شویر - شهریار عینی زاده
تأثیر کاربرد پس از برداشت اسید آسکوربیک بر عمر انبارمانی و کیفیت میوه‌ی خرمالو (*Diospyros kaki* Thunb.) 243
فهیمه نصر - ولی ربیعی - فرهنگ رضوی - غلامرضا گوهری
همبستگی کانونی صفات مورفولوژی و فیتوشیمیایی پنج رقم ارکیده فالانوپسیس 261
فاطمه بیدرنامنی - سید نجم الدین مرتضوی - یعثوب شیری
مدل‌سازی خطی تأثیر آفات و بیماری‌ها بر روند رشد گیاه توت فرنگی در فضای حالت 273
زهره عباسی - ایمان زمانی - محسن شفیعی راد - امیرحسین امیری مهرا - مهدی حسینی فرهی
اثر کاربرد کودهای آلی و زیستی بر خصوصیات رشدی و بیوشیمیایی رازیانه (*Foeniculum vulgar* Miller) در شرایط گلخانه 287
سید امیرحمزه بهاری میمندی - شهرام شرف زاده - امید علیزاده - فرود بذرافشان - بهرام امیری
بررسی اثر جیبرلیک‌اسید و طیف‌های مختلف نور LED بر کیفیت نشاء *Cyclamen persicum* Mill. 309
بدری غلامیان دهکردی - سعید ریزی - مسعود قاسمی قهساره
تأثیر اشعه ماورابنفش (UV-C) بر رنگیزه‌های فتوسنتزی و پارامترهای بیوشیمیایی گیاه خرفه (*Portulaca oleracea*) 321
زینب السادات شاه زیدی - سعید حسامی تکلو - لیلا امجد - حکیمه زالی - علیرضا ایرانبخش

Journal of Horticultural Science
https:// jhs.um.ac.ir

Research Article
Vol. 36, No. 1, Spring 2022, p. 1-14

Study on Storability of Afghan Local Onions (*Allium cepa* L.) at Two Thermal Conditions

S.A. Yaqoobi[1], H. Nemati[2]*, M. Azizi[3], M. Shoor[4]

Received: 03-10-2017
Revised: 24-10-2018
Accepted: 13-03-2019
Available Online: 20-06-2022

How to cite this article:
Yaqoobi S.A., Nemati H., Azizi M., and Shoor M. 2022. Study on Storability of Afghan Local Onions (*Allium cepa* L.) at Two Thermal Conditions. Journal of Horticultural Science 36(1): 1-14. (In Persian with English abstract)
DOI: 10.22067/JHS.2021.60204.0

Introduction

Storage potential is an important characteristic for onion. Annually, a large quantity of worldwide onion production deteriorated during storage. The storage ability of onion is influenced by various endo- and exogenous factors including cultivar and storage conditions specially, temperature. Based on literature, there is considerable genetic variation for onion storability in onion germplasms from different origins. Rivera Martínez *et al.* (2005) evaluated the storability of 18 local and 4 commercial onion cultivars in Spain. Their results showed that there was significant variation for storability among different onion cultivars, and interstingly the local cultivars had more storability than commercial ones. Onion storage could also affected by environmental conditions such as temperature. Benkeblia *et al.* (2000) studied the effects of various temperatures on respiratory parameters of onion. Their finding showed onion respiration were raised by increasing temperature. Likewise, the positive effect of higher temperature on enhancing the growth of sprouts and elevating transpiration has been reported (Miedema, 1998; Yoo *et al.*, 1997). Although, Afghanistan is considered to be one of the origins of onion (Brewster, 1994) there are no reports on estimating the storability of Afghan local cultivars under different temperature conditions. So this research has been conducted to study the effects of various temperatures on storability of native onion cultivars of Afghanistan.

Materials and Methods

In this research, the plant materials consisted of 10 onion cultivars consisting eight local varieties “Hanaaie Harat”, “Zard-e-Harat”, “Ghermrz-e-Harat”, “Mazar-e-Sharif”, “Kabul”, “Sar-e-Pul”, “Ghonduz” and “Balkhaab” originated from Afghanistan, an Iranian cultivar (“Ghermez-e-Azarshahr”), and a commercial cultivar “Sweet Grano”. The cultivars were stored at two different temperature regimes (5 ºC and ambient temperature), during six-time intervals of 20 days. The average temperature of ambient storage was 13 °C ranging from 8-18 °C. The experiment lasted from November 6th, 2011 to March 5th, 2012. This research was performed in a completely randomized design based on split factorial design, with three replications. For each replication, 50 healthy non-sprouted bulbs were packaged in plastic nets. Storage potential related characteristics such as sprouting percentage, weight loss percentage, sprout length, and sprout weight/bulb weight ratio in 20 days intervals were measured. All data were subjected to analysis of variance (ANOVA) using SAS statistical software. Mean comparisons were calculated at 5% probability level using LSD when the F-value was significant (Fisher’s protected LSD).

Results and Discussion

The results showed that there were significant differences among cultivars for storage characteristics (weight loss percentage, sprouting percentage, length of sprouts and sprout weight/bulb weight ratio). “Ghonduz” and “Ghermrz-e-Harat” local cultivars had the most and least storage ability, 50% of bulb sprouting after 105 and 35 days, respectively. Rivera Martínez *et al.* (2005) and Ramin (1999) also reported Spanish and Iranian local

1, 2, 3 and 4- Ph.D. Student, Assistant Professor, Professor and Associate Professor, Department of Horticultural Science and Landscape, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: nemati@um.ac.ir)

cultivars had more storability compared to commercial cultivars. In 5 °C, weight loss of onion bulbs followed a linear model during storage period. But, in ambient storage, it was higher at the beginning and the end of storage period, showing the adverse effects of high temperatures on bulbs weight loss during storage. The interaction between cultivar and time was also significant. It showed onion weight loss differs in various intervals. It could be attributed to the genetic variation and morphological difference such as number and thickness of dry scales of onion bulbs. In ambient storage condition, onion sprouting percentage showed a sharp increase in early storage intervals and became stable in the late intervals. Under 5 °C treatment, it raised as a linear model with very slow slope. It seems that weight loss and sprouting of onion bulbs in ambient storage is dependent on temperature and relative humidity of environment. This finding is in agreement with previous reports (Baninasab and Rahemi, 2006; Forudi, 2005). The sprout length and the ratio of sprout weight to bulb weight was lower in 5 ºC than ambient temperature. Abdalla and Mann (1963) and Yoo *et al.* (1997) also reported that smaller sprouts were observed in lower temperatures.

Conclusion

In this experiment, the effects of temperature on storability of some local cultivars of onion originated from Afghanistan were studied in different intervals. It was found that the storage potential of onion bulbs could be influenced by genetic factors and environment conditions such as temperature. Findings of this research showed that sprouting percentage, weight loss percentage and onion sprout growth were less under 5 °C treatment than ambient temperature. Therefore, it was concluded that storing onion bulbs in low temperature conditions can reduce the onion spoilage and improve their storage life. Additionally, cultivars showed highly significant variations for all characteristics related to storage ability. Our findings showed that some local cultivars are more storable than commercial cultivars. Among the cultivars, “Ghonduz” cultivar has more storage potent as compared to all studied cultivars. Our results confirmed that local cultivars can be a good source of desirable genes related to storability. Subsequently, they can exploited to broaden the genetic base of breeding matreials.

Keywords: Genetic variation, Onion, Spouting, Temperature, Weight loss

نشریه علوم باغبانی
https:// jhs.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۶، شماره ۱، بهار ۱۴۰۱، ص ۱۴-۱

بررسی انبارمانی توده‌های پیاز خوراکی (*Allium cepa* L.) بومی افغانستان در دو شرایط دمایی

سید علی یعقوبی[۱]– حسین نعمتی[۲*]– مجید عزیزی[۳]– محمود شور[٤]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۷/۱۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۲/۲۲

چکیده

پیاز خوراکی از نظر قابلیت انبارمانی دارای تنوع ژنتیکی زیادی است که شرایط محیطی از جمله دما نیز بر روی آن اثر می‌گذارد. در این تحقیق قابلیت انبارمانی هشت توده پیاز خوراکی بومی افغانستان شامل «حنایی هرات»، «زردهرات»، «قرمزهرات»، «مزارشریف»، «کابل»، «سرپل»، «قندوز» و «بلخاب»، به همراه رقم ایرانی «قرمزآذرشهر» و رقم تجاری «سویت‌گرانو» در دو دمای ۵ درجه سانتی‌گراد و دمای انبار معمولی در طی ۱۲۰ روز (۶ دوره ۲۰ روزه) بررسی شد. این آزمایش از نیمه آبان تا نیمه اسفند سال ۱۳۹۰ در دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. این پژوهش به صورت آزمایش فاکتوریل خرد شده بر پایه طرح کاملاً تصادفی طرح‌ریزی و اجرا گردید. نتایج نشان داد بین ارقام از نظر صفات انبارمانی (درصد کاهش وزن، درصد سبزشدن، طول جوانه سبز شده و وزن جوانه سبز شده به وزن سوخ)، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود داشت. طی ۱۲۰ روز انبارداری در انبار معمولی، بیشتر توده‌ها با سرعت زیادی شروع به سبزشدن کردند، به صورتی که در توده‌های حنایی هرات، قرمز کابل، سرپل، بلخاب و قرمزآذرشهر، ۵۰ روز و در توده‌های بومی زردهرات، مزارشریف و رقم سویت‌گرانو، حدود ۷۵ روز پس از شروع انبارداری حدود ۵۰ درصد از سوخ‌ها سبزشدند، اما توده بومی قندوز و قرمزهرات به ترتیب بیشترین و کمترین ماندگاری (۵۰ درصد سبزشدن پس از ۱۰۵ و ۳۵ روز در دمای انبار معمولی) را داشتند. کمترین کاهش وزن مربوط به توده قندوز (۱۴/۳ درصد در انبار معمولی و ۱۲/۷ درصد در ۵ درجه سانتی‌گراد) و بیشترین کاهش وزن مربوط به توده بلخاب (۲۰/۶ درصد در انبار معمولی و ۱۴/۶ درصد در ۵ درجه سانتی‌گراد) بود. همچنین بین دو شرایط دمایی از نظر صفات اندازه‌گیری شده در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌دار وجود داشت. اثر متقابل زمان و رقم در مورد صفات کاهش وزن و سبزشدن، در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شد، بنابراین الگوی کاهش وزن و سبزشدن ارقام طی دوره انباری با هم متفاوت بود. اثر متقابل زمان × شرایط دمایی در صفات کاهش وزن و سبزشدن در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. کاهش وزن در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد روند خطی کاهشی و سبزشدن روند خطی افزایشی با شیب کم داشت، در حالی که در مورد دمای انبار معمولی یک الگوی منحنی شکل وجود داشته به‌طوری‌که در اواسط دوره، کاهش وزن کمتر و سبزشدن بیشتر بوده است. اثر متقابل دما×رقم، فقط در مورد کاهش وزن در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد. کاهش وزن سوخ‌ها، در دمای انبار معمولی در ابتدا و انتهای دوره انبارداری بیشتر بود، اما در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد، کاهش وزن طبق یک مدل خطی در طول زمان انبارمانی کاهش یافت. درصد سبزشدن سوخ‌ها، در دمای انبار معمولی در فواصل ابتدایی دوره انبارداری با سرعت زیاد افزایش یافت و در فواصل انتهایی انبارمانی ثابت شد، اما در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد، درصد سبزشدن طبق یک مدل خطی با شیب بسیار کمی در طول زمان افزایش داشت. در مجموع از بین ارقام و توده‌های بومی مختلف پیاز مورد بررسی در این پژوهش، توده بومی قندوز انبارمانی بیشتری داشت. تنوع زیادی در انبارمانی توده‌های پیاز بومی افغانستان وجود دارد که می‌تواند در برنامه‌های اصلاحی مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: پیاز، تنوع ژنتیکی، دما، سبزشدن، کاهش وزن

۱، ۲، ۳ و ۴- به‌ترتیب دانشجوی دکتری، استادیار، استاد و دانشیار، گروه مهندسی علوم باغبانی و فضای سبز، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: nemati@um.ac.ir)

DOI: 10.22067/JHS.2021.60204.0

مقدمه

انبارمانی پیاز خوراکی از صفات مهم موردتوجه در کشت و توسعه این محصول است. هرساله مقدار زیادی از محصول تولیدی پیاز خوراکی می‌تواند به دلایل مختلفی از جمله پتانسیل ژنتیکی پایین انبارمانی رقم، عوامل نامساعد پرورش، آماده سازی و شرایط نامساعد رطوبتی و دمایی و گازی انبار از بین برود. انتخاب ارقام مناسب با قابلیت انبارمانی بالا و بهینه سازی دمایی شرایط انبار برای پیاز از راهکارهایی است که می‌تواند خسارت را کاهش دهد (Brewster, 1997).

وقتی پیاز بالغ می‌شود، سوخ وارد مرحله‌ی خواب می‌گردد. تصور می‌شود آغاز خواب با انتقال مواد بازدارنده رشد از جمله اسید ابسایزیک از برگ‌ها به سوخ‌ها ایجاد می‌شود که باعث کاهش چشمگیری در میتوز جوانه انتهایی ساقه در مرحله‌ی پس از برداشت می‌شود. در طول زمان پس از برداشت، میزان بازدارنده‌های رشد کاهش می‌یابد که با افزایش فعالیت سیتوکینین و سپس جیبرلین و اکسین همراه است که باعث افزایش کند میزان تنفس سوخ، افزایش در وزن جوانه رشد کرده درون سوخ و کاهش زمان تولید ریشه‌ها و جوانه قابل رویت، می‌شود (Chope *et al.*, 2007). سبزکردن سوخ به عنوان اولین نشانه ظاهری پایان قابلیت انبارمانی پیاز خوراکی محسوب می‌شود. رشد جوانه سبز شده باعث مصرف مواد ذخیره‌ای سوخ ، کاهش وزن و تو خالی شدن سوخ‌ها می‌شود.

قابلیت انبارداری در ارقام مختلف متفاوت است (Gubb and MacTavish, 2002). نتایج میدما (Miedema, 1994)، در مطالعه ی ۱۰ رقم پیاز خوراکی ذخیره شده در دمای ۱۰ درجه، نشان داد، زمان طی شده تا ۵۰٪ سبزکردن در انبار خشک از ۱۴۹ روز تا ۳۱۰ روز متفاوت بود. نتایج فرودی (Forudi, 2005) در مطالعه ی ۵ رقم پیاز خوراکی بومی ایران در شرایط انبار معمولی، نشان می‌دهد درصد سبزکردن و کاهش وزن این ارقام با هم متفاوت است. بر اساس نتایج ریورا مارتینز و همکاران (Rivera Martínez *et al.*, 2005) که ۱۸ لاین محلی و ۴ رقم تجاری را در اسپانیا در دمای ۱۰–۱۵ درجه سانتی‌گراد مقایسه کرد، ارقام از نظر درصد سبزشدن بعد از ۱۲، ۱۶، ۲۰ و ۲۴ هفته در دمای ۱۰–۱۵ درجه با هم تفاوت معنی‌داری نشان دادند. همچنین نتایج او نشان داد بعضی از ارقام محلی قابلیت انبارمانی بیشتری نسبت به ارقام تجاری داشتند که این موضوع اهمیت تحقیقات روی توده‌های بومی هر منطقه را نشان می‌دهد. ارقام در تعداد پوست خشک و ضخامت آن با هم تفاوت دارند که این موضوع می‌تواند بر قابلیت انبارمانی پیاز و میزان کاهش وزن، اثر بگذارد (Brewster, 1997;Gubb and MacTavish, 2002).

علاوه بر رقم، دمای انبار اثر تعیین‌کننده‌ای بر انبارمانی پیاز خوراکی دارد (Gubb and MacTavish, 2002). دمای پایین میزان تنفس را کاهش می‌دهد و با کاهش فعالیت رشدی مانع سبزشدن پیاز می‌شود. بنکبلیا و همکاران (Benkeblia *et al.*, 2000) با بررسی میزان تنفس یک رقم پیاز خوراکی در دماهای ۴، ۱۰ و ۲۰ درجه سانتی‌گراد، به این نتیجه رسیدند که با افزایش دما میزان تنفس پیازها نیز افزایش می‌یابد. همچنین نتایج آنها نشان می‌دهد میزان تنفس سوخ‌های سبز شده بیشتر از سوخ‌های سبز نشده است. به نظر می‌رسد که سبزشدن با افزایش در میزان سایتوکینین آغازش می‌یابد. دمای ۲۵– ۳۰ درجه سانتی‌گراد تولید سایتوکینین را مختل می‌کند، اما دمای حدود ۱۵ درجه محرک تولید آن است (Chope *et al.*, 2007) و باعث سبزشدن پیاز می‌شود. نتایج محققین نشان می‌دهد رشد جوانه در دمای پایین‌تر رشد کمتری نسبت به دماهای بالاتر دارد (Abdalla ; Yoo *et al.*, 2012; Chope *et al.*, 2007and Mann, 1963). همچنین در دمای پایین‌تر میزان تبخیر و تعرق و کاهش رطوبت پیاز، کمتر می‌شود (Gubb and MacTavish, 2002).

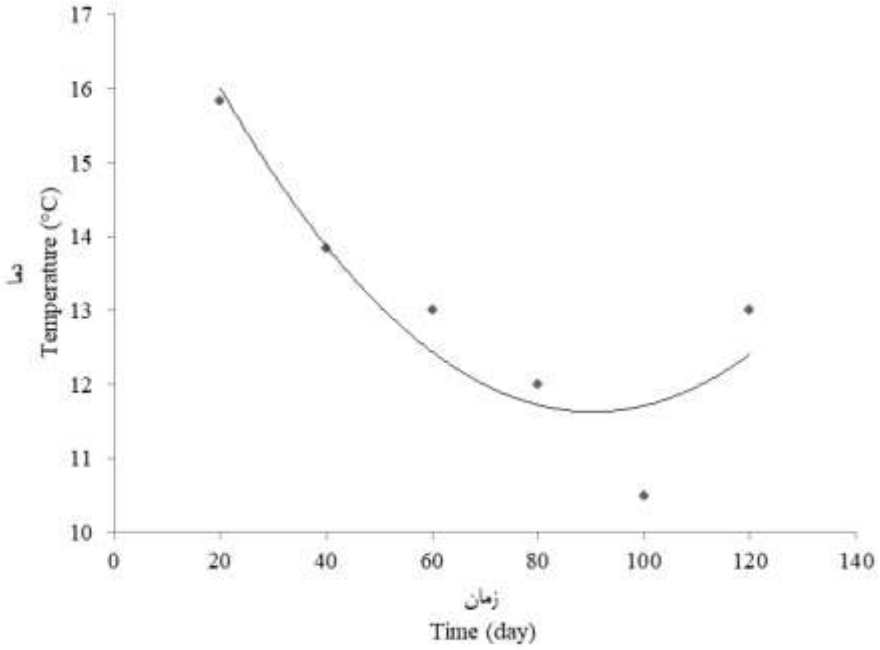
افغانستان از مناطق اصلی تنوع ژنتیکی پیاز خوراکی محسوب می‌شود (Brewster, 2008)، که امروزه توده‌های بومی زیادی در مناطق مختلف آن کشت‌وکار می‌شود. تا کنون گزارشی در مورد پتانسیل انبارمانی این توده‌های بومی به چاپ نرسیده است. همچنین اطلاعاتی در مورد خصوصیات مربوط به انبارمانی پیاز در فواصل بین دوره انبارداری وجود ندارد. هدف ما در این تحقیق بررسی انبارمانی هشت توده پیاز خوراکی بومی افغانستان در دو دمای مختلف و فواصل بین دوره انبارداری است.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش، ماندگاری هشت توده بومی پیاز خوراکی مربوط به مناطق مختلف افغانستان به‌علاوه‌ی رقم ایرانی «قرمزآذرشهر» و رقم «تجاری سویت‌گرانو» در دو شرایط دمایی مختلف در طی چهار ماه بررسی شد. سوخ‌های مورداستفاده در آزمایش، از کاشت بذور این توده‌ها و ارقام، در باغ پژوهشی گروه علوم باغبانی دانشگاه فردوسی مشهد در سال ۱۳۹۰، تحت شرایط یکسان، به‌دست‌آمده بود.

آزمایش به‌صورت فاکتوریل خرد شده بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. زمان به‌عنوان عامل اصلی دارای ۶ سطح شامل فواصل ۲۰ روز از نیمه آبان تا نیمه اسفند بود. عوامل فرعی شامل اثر رقم در ۱۰ سطح شامل «حنایی هرات»، «زردهرات»، «قرمزهرات»، «مزارشریف»، «کابل»، «سرپل»، «قندوز»، «بلخاب»، «قرمزآذرشهر» و «سویت‌گرانو» و اثر شرایط دمایی انبار در دو سطح شامل دمای ۵ درجه سانتی‌گراد و انبار معمولی بود. انبار معمولی اتاقی سرپوشیده بدون تجهیزات سرمایشی و گرمایشی بود. دمای انبار

معمولی با استفاده از یک دماسنج حداکثر و حداقل اندازه‌گیری شد. میانگین دمای انبار معمولی حدود ۱۳ درجه سانتی‌گراد بود که حداکثر به ۱۸ درجه در روز و حداقل ۸ درجه در شب رسید (۱۳±۵°C). در شکل ۱ میانگین دمای انبار معمولی طی آزمایش نشان داده شده است.



شکل ۱- میانگین دمای انبار معمولی در طی ۱۲۰ روز انبارداری از ۱۵ آبان تا ۱۵ اسفند سال ۱۳۹۰

Figure 1- Average temperature of ambient storage during 120 days storage from November 6th to March 5th , 2011-2012

برای هر تکرار از هر تیمار، ۵۰ عدد سوخ سالم و فاقد هرگونه بیماری و سبزشدگی، با وزن متوسط ۷۰ گرم از هر رقم، انتخاب و در کیسه‌های توری پلاستیکی قرار داده شد.

در فواصل ۲۰ روزه بعد از قرارگرفتن پیازها در دو شرایط دمایی، تعدادی از صفات مرتبط با قابلیت انباری پیازها اندازه‌گیری و ثبت گردید. وزن پیازها در زمان قرارگرفتن در انبار ثبت شده بود. برای اندازه‌گیری کاهش وزن پیازها، در فواصل زمانی بعدی، پیازها دوباره وزن می‌شدند، سپس پیازهای سبز شده جدا می‌شد و وزن تر پیازهای باقیمانده ثبت می‌گردید. درصد کاهش وزن سوخ‌ها در هر دوره بر اساس رابطه ذیل، محاسبه شد:

$$R_i = (W_i/W_{i-1}) \times 100$$

R_i = درصد کاهش وزن پیازها در طی دوره‌ی iام

W_i = وزن سوخ‌ها در پایان دوره iام

W_{i-1} = وزن سوخ‌ها در پایان دوره‌ی قبلی

در هر دوره‌ی اندازه‌گیری، تعداد پیازهای سبز شده، شمارش و وزن آن‌ها ثبت می‌گردید. درصد سبزشدن پیازها بر اساس رابطه ذیل محاسبه شد:

درصد سبزشدن پیازها = ۱۰۰× (تعداد کل سوخ‌ها /تعداد سوخ سبز شده)

طول جوانه سبز شده از محل گردن پیاز اندازه‌گیری می‌شد، سپس جوانه سبز شده از محل گردن قطع و وزن آن ثبت می‌گردید. میانگین وزن سوخ‌های سبز شده به دست آمد و درصد وزن جوانه سبز شده به وزن سوخ از رابطه ذیل محاسبه شد:

درصد وزن جوانه سبز شده به وزن سوخ = ۱۰۰ × (وزن سوخ سبز شده /وزن جوانه سبز شده)

تجزیه‌وتحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.0 انجام شد. مقایسه میانگین تیمارها بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام گردید. داده‌های مربوط به درصد سبزشدن پیازها، پس از تبدیل زاویه‌ای ($Arcsin\sqrt{x+0.01}$) تجزیه واریانس و مقایسه میانگین شدند. رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel انجام گرفت.

نتایج و بحث

کاهش وزن

طی ۱۲۰ روز انبارداری، کمترین کاهش وزن مربوط به توده قندوز (۱۴/۳ درصد در انبار معمولی و ۱۲/۷ درصد در ۵ درجه سانتی‌گراد) و بیشترین کاهش وزن مربوط به توده بلخاب (۲۰/۶

درصد در انبار معمولی و ۱۴/۶ درصد در ۵ درجه سانتی‌گراد) بود. اثر متقابل بین زمان اندازه‌گیری و شرایط دمایی انبار در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). کاهش وزن سوخ‌ها در دمای ۵ درجه روند کاهشی داشت، به صورتی که در ابتدای انبارداری حداکثر کاهش وزن مشاهده می‌شود، اما در انتهای دوره به حداقل می‌رسد. در دمای انبار معمولی، وسط دوره انبارداری، کاهش وزن سوخ‌ها کم می‌شود اما سپس افزایش می‌یابد (شکل ۲). احتمالاً چون سوخ‌ها در ابتدای انبارداری محتوای آب بیشتری دارند، ازدست‌دادن آب و کاهش وزن نیز، در ابتدا بیشتر است. در ابتدای دوره انبارداری دمای انبار بیشتر بوده و درصد کاهش وزن نیز بیشترین مقدار را داشته، در اواسط دوره با کاهش دما مقدار کاهش وزن نیز کم شده و در پایان دوره با کمی افزایش دما، درصد کاهش وزن نیز افزایش‌یافته است. میزان رطوبت محیط نیز در میزان کاهش وزن خصوصاً در انبار معمولی، می‌تواند اثرگذار باشد. رطوبت محیط در ابتدای دوره انبارداری کمتر است، بنابراین پیازها آب بیشتری از دست می‌دهند، اما در زمستان که رطوبت محیط بیشتر است، کاهش وزن کمتر می‌شود. به‌طورکلی تبخیر و تعرق در دمای بالاتر، بیشتر بوده است (شکل ۲).

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس خصوصیات انبارمانی ارقام مختلف پیاز خوراکی

Table 1- ANOVA for the storability characteristics of different onion cultivars

منابع تغییر Source of variation	DF	میانگین مربعات Mean Squares			
		کاهش وزن Weight loss	سبزشدن Sprouting	طول جوانه سبز شده Length of sprouts	وزن جوانه سبز شده به وزن سوخ Sprout weight/ bulb weight
زمان Time	5	0.60 **	1310.96 **	67.46 ns	1.09 ns
خطا E_a (a)	12	0.11	154.46	51.43	1.09
رقم Cultivar	9	2.59 **	582.14 **	487.20 **	2.29 **
شرایط دمایی Temperature condition	1	34.29 **	39026.59 **	5045.88 **	57.45 **
زمان× رقم Time×cultivar	45	0.46 *	213.12 *	70.54 ns	1.15 ns
زمان× شرایط دمایی Time×Temperature	5	0.91 **	685.59 **	45.64 ns	0.57 ns
رقم× دما Cultivar×Temperature	9	0.58 *	111.05 ns	75.47 ns	0.96 ns
زمان× رقم× شرایط دمایی Time×Cultivar×Temperature	45	0.33 ns	185.27 ns	50.41 ns	1.08 ns
خطا E_b (b)	228	0.27	145.30	51.00	0.94

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

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

باتوجه‌به معنی‌دار شدن اثر متقابل زمان اندازه‌گیری و رقم بر کاهش وزن پیازها (جدول ۱)، می‌توان گفت میزان کاهش وزن توده‌های مختلف پیاز در طول مدت انبارداری با هم متفاوت است. نتایج نشان داد اثر متقابل بین رقم و دما بر کاهش وزن پیازها در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بوده است (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل بین رقم و دما بر کاهش وزن ارقام مختلف پیاز در شکل ۳ مشاهده می‌شود. باتوجه‌به این شکل، در همه ارقام به‌غیراز توده قرمزهرات و توده قندوز، درصد کاهش وزن در دمای انبار سرد نسبت به شرایط دمای انبار معمولی کمتر بوده است اما در توده‌های قرمزهرات و قندوز تفاوت معنی‌داری بین درصد کاهش وزن در دو شرایط دمایی مختلف وجود ندارد. کمترین کاهش وزن، هم در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد و هم در دمای انبار معمولی، مربوط به توده بومی قندوز بود. در مجموع توده بومی بلخاب و سرپل بیشترین کاهش وزن را در دمای انبار معمولی داشتند که در مورد توده بلخاب می‌توان آن را به تعداد کمتر پوست خشک در این توده بومی (نتایج منتشر نشده) نسبت داد. نبود پوست خشک خارجی، میزان تنفس را افزایش می‌دهد که باعث کاهش ماده خشک پیاز می‌گردد و سبز کردن را تسریع می‌کند. از طرفی پوست خشک پیاز مانع تبخیر آب و کاهش وزن تر پیاز می‌شود. ضخامت پوست پیاز که در ارقام مختلف متفاوت است، نیز در میزان تبخیر و تعرق اثرگذار است (Brewster, 2008) که تفاوت در ماندگاری توده‌ها به این خصوصیت نیز مربوط می‌شود.

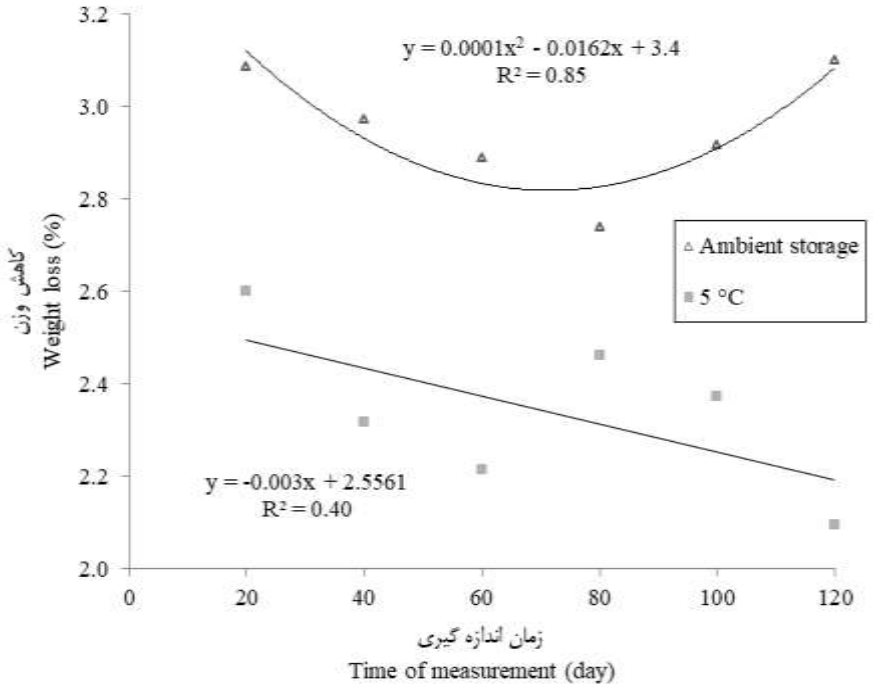
جدول ۲- خصوصیات انبارمانی ارقام مختلف پیاز خوراکی و شرایط دمایی مختلف در فواصل ۲۰ روزه

Table 2- Means comparison of storability characteristics of different onion cultivars and different temperature condition in 20 days intervals

تیمار Treatment	کاهش وزن Weight loss (%)	سبزشدن Sprouting (%)	طول جوانه سبز شده Length of sprouts (mm)	وزن جوانه سبز شده به وزن سوخ Sprout weight/ bulb weight (%)
ارقام Cultivar				
"Hanaaie Harat" حنایی هرات	2.45 b	13.66 cd	4.97 f	0.35 d
"Zard-e-Harat" زردهرات	2.80 a	18.64 bc	16.91 a	0.88 abc
"Ghermrz-e-Harat" قرمزهرات	2.84 a	24.74 a	11.85 b	1.19 a
"Mazar-e-Sharif" توده مزارشریف	2.46 b	17.78 bc	12.51 b	0.74
"Kabul" قرمز کابل	2.82 a	20.27 ab	8.45 cde	0.89 abc
"Sar-e-Pul" توده سرپل	2.92 a	19.62 ab	6.38 ef	0.67 bcd
"Ghonduz" توده قندوز	2.25 b	10.66 d	6.21 ef	0.53 bcd
"Balkhaab" توده بلخاب	3.04 a	21.01 ab	10.11 bcd	0.84 abc
"Ghermez-e-Azarshahr" قرمزآذرشهر	2.41 b	20.49 ab	11.11 bc	0.93 ab
"Sweet Grano" سویت‌گرانو	2.49 b	15.87 bcd	6.8 def	0.46 cd
شرایط دمایی Temperature conditions				
انبار معمولی (Ambient storage)	2.96 a	28.7 a	13.27 a	1.15 a
دمای ۵ درجه سانتی‌گراد (5 °C)	2.34 b	7.9 b	5.79 b	0.35 b

در هر ستون، میانگین‌های مربوط به هر تیمار که دارای حروف مشابه هستند، بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

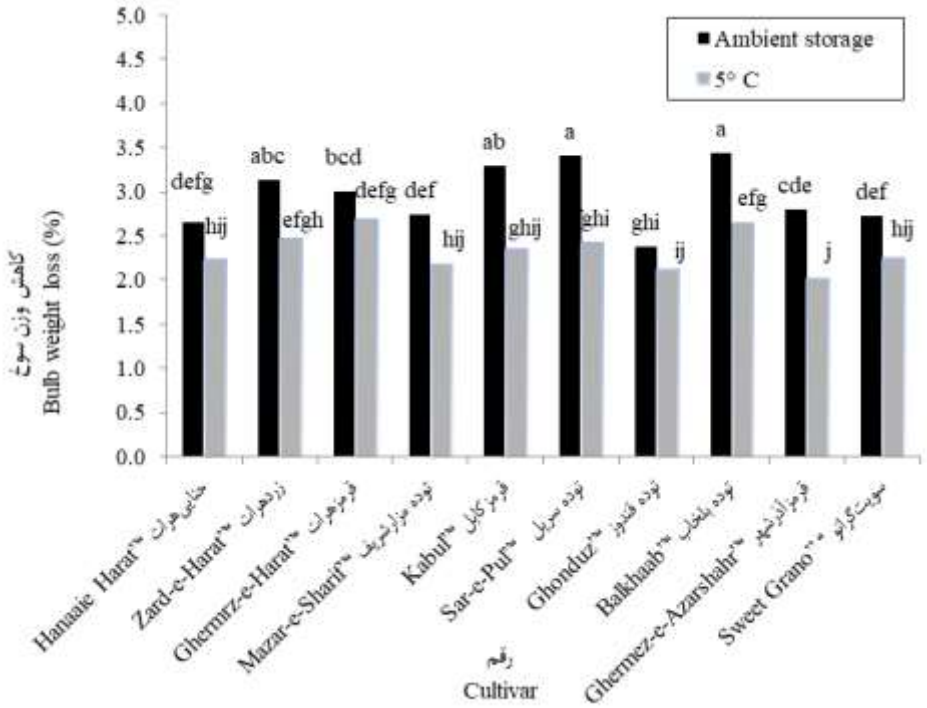
In each column, means with same letters have not significant difference at 5% of probability level by LSD test.



شکل ۲- روند کاهش وزن سوخ‌ها در دو شرایط دمایی ۵ درجه سانتی‌گراد و انبار معمولی در فواصل ۲۰ روزه از ۱۵ آبان تا ۱۵ اسفند سال ۱۳۹۰

Figure 2- Trend of bulb weight loss under two different temperature conditions in 20 days intervals from November 6th to March 5th, 2011-2012

نتـــایج فـــرودی (Forudi, 2005) و گورپـــاتی و همکـــاران (Gorrepati *et al.*, 2018) نیز تایید می‌کند درصد کاهش وزن ارقام مختلف پیاز با هم تفاوت دارد. بنی نسب و راحمـی (Baninasab *et al.*, 2006) نیز با بررسی دو رقم قرمزآذرشهر و یلو سوییت اسـپانیش در دماهای ۱۵، ۲۵ و ۳۵ درجه سانتی‌گراد به این نتیجـه رسـیده انـد کاهش وزن این دو رقم با هم تفاوت معنی‌داری دارد و با افزایش دما، بیشتر می‌شود. به‌طورکلی در ارقام و دماهـای مختلـف، رونـد کـاهش تجمعی وزن در طول زمـان انبـارداری، از یـک مـدل خطـی تبعیـت می‌کند (شکل ۴).



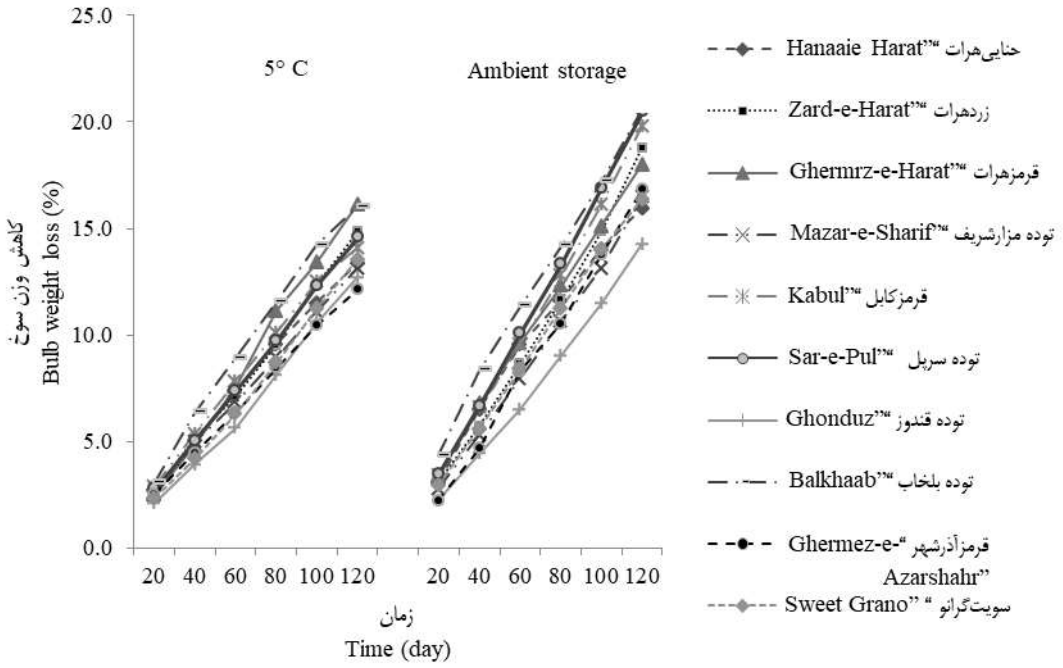
شکل ۳– کاهش وزن سوخ پیازها در فواصل ۲۰ روزه تحت‌تأثیر اثر متقابل رقم × شرایط دمایی

Figure 3- Bulb weight loss of onions in 20 days intervals under the interaction between Cultivar × temperature conditions (LSD, *p≤0.05*)

سبزشدن

در طی ۶ دوره اندازه‌گیری در فواصل ۲۰ روز، درصد سبزشدن در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد با شیب بسیار کمی به‌صورت خطی افـزایش یافت اما در دمای انبار معمولی تا روز ۸۰، سرعت سبزشدن پیازها زیاد بود و بعد از آن تقریباً ثابت ماند (شکل ۵). یکی از عواملی که می‌تواند روند سبزشدن پیازها در انبار معمولی را توجیـه کنـد تفـاوت میـانگین دمای انبار معمولی در دوره‌های مختلف، باشد. شکل ۷ رابطـه‌ی بـین میانگین دمای انبار و درصد سبزشدن ارقـام مختلـف پیـاز را در انبـار معمولی نشان می‌دهد. بر اساس این شکل، بیشترین درصد سبزشـدن زمانی اتفاق افتاده است که میانگین دما بـین ۱۰ تـا ۱۳ درجـه بـوده است. با افزایش دما از ۱۳ تا ۱۶ درجه، سبزشدن پیازها کـاهش‌یافتـه است. بررسی درصد سبزشدن دو رقـم پیـاز در دماهـای ۱۵، ۲۵ و ۳۵ درجه سانتی‌گراد توسط بنـی نسـب و راحمـی (Baninasab *et al.*, 2006) نیز، نشان می‌دهد با افـزایش دمـا از ۱۵ درجـه تـا ۳۵ درجـه سانتی‌گراد درصد سبزشدن پیازها به‌شدت کاهش‌یافته است. همچنین بین ارقام در درصد سبزشدن تفاوت معنی‌دار وجود داشته است. عامـل دیگر می‌تواند توزیع متفاوت خواب در بین تک سوخ‌های هر رقم باشد که شکل ۵ نیز می‌تواند موید این مطلب باشد.

درصد سبزشدن در دمای ۵ درجه سانتی‌گـراد بسـیار پـایین‌تـر از دمای انبار معمولی بوده است. این نشان مـی‌دهـد در دمـای ۵ درجـه سانتی‌گراد فعالیت رشدی سوخ‌ها کمتر بوده است. نتایج یو و همکاران (Yoo *et al.*, 1997) نشان می‌دهد تغییرات قندها در سوخ‌های انبـار شده در دمـای ۲۴ و ۳۰ درجـه سـانتی‌گـراد در مقایسـه بـا ۵ درجـه سانتی‌گراد بیشتر بوده است.

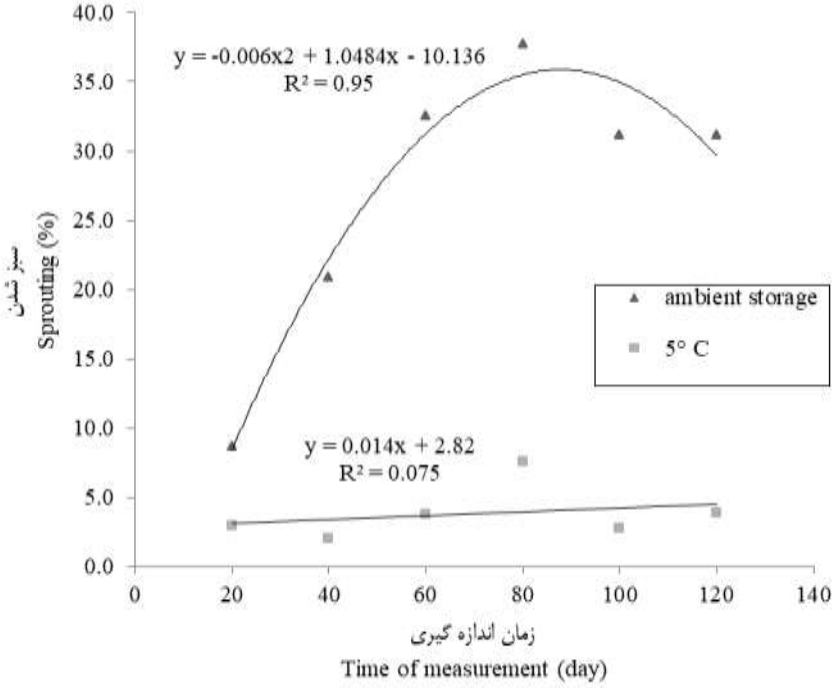


شکل ۴- مقایسه روند تجمعی کاهش وزن ارقام مختلف پیاز در دو شرایط دمایی از ۱۵ آبان تا ۱۵ اسفند سال ۱۳۹۰

Figure 4- Comparison of cumulative bulb weight loss of different onion cultivars in two temperature conditions from November 6th to March 5th, 2011-2012

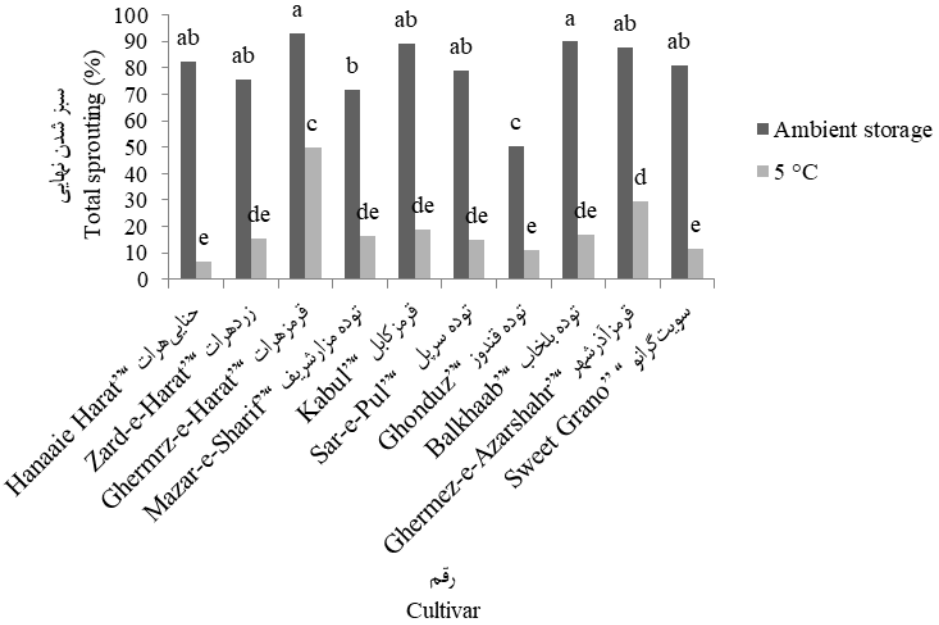
در شکل ۶ مشاهده می‌شود کمترین درصد سبزشدن در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد و انبار معمولی (به ترتیب ۱۱ و ۵۰/۲ درصد)، بعد از ۱۲۰ روز، مربوط به توده بومی قندوز بوده است. درصد سبزشدن توده‌ها و ارقام مختلف پیاز با هم تفاوت معنی‌دار داشت (جدول ۱). تفاوت ارقام پیاز از لحاظ سبزشدن در طی انبارداری توسط گورپاتی و همکاران (Gorrepati *et al.*, 2018) نیز گزارش شده است. توده بومی قرمزهرات بیشترین درصد سبزشدن را در هر دو شرایط دمایی (۵۰/۱ درصد در ۵ درجه و ۹۲/۸ درصد در انبار معمولی) به خود اختصاص داده است به صورتی که حتی در دمای ۵ درجه، بیش از دوبرابر دیگر توده‌های بومی سبز شده است که نشان می‌دهد پتانسیل انبارداری این توده بسیار پایین می‌باشد. کو و همکاران (Ko *et al.*, 2002) نیز گزارش کردند ضایعات انباری ۱۲ رقم پیاز طی سه ماه انبارداری در شرایط انبار معمولی بین ۲۱ تا ۹۹ درصد بود. باتوجه‌به شکل ۶، در شرایط دمایی انبار معمولی، میزان سبزشدن در توده قندوز کمتر از رقم تجاری سویت‌گرانو است. نتایج ریورا مارتینز و همکاران (Rivera Martínez *et al.*, 2005) نیز نشان می‌دهد بعضی از ارقام محلی اسپانیا قابلیت انبارمانی بیشتری نسبت به ارقام تجاری دارا هستند. همچنین بر اساس نتایج رامین (Ramin, 1999) توده بومی درچه ماندگاری بیشتری نسبت به رقم تگزاس ارلی گرانو دارد. با توجه به این نتایج، قابلیت انبارمانی بعضی از توده‌های بومی بیشتر از ارقام معروف تجاری است. این موضوع برتری ژنتیکی بعضی از توده‌های بومی از نظر قابلیت انبارمانی را نشان می‌دهد. می‌توان این توده‌های بومی را برای بهبود ژنتیکی انبارمانی پیازها، وارد برنامه اصلاحی کرد. همچنین معنی‌دار شدن اثر رقم در مورد صفت سبزشدن، نشان می‌دهد این صفت وراثت پذیری بالایی داشته است. بنابراین می‌توان با انتخاب کیفیت انباری پیازها را بهبود بخشید (Pike, 1986).

اثر متقابل زمان اندازه‌گیری و رقم بر درصد سبزشدن توده‌های مختلف پیاز در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شده است (جدول ۱). براین‌اساس می‌توان گفت روند سبزشدن توده‌های مختلف پیاز در طی انبارداری با هم متفاوت است. بر اساس شکل ۸، روند سبزشدن پیازها در طول انبارداری در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد تقریباً خطی است که با شیب کمی افزایش می‌یابد، به‌استثنای توده بومی قرمزهرات که ۴۰ روز پس از انبارداری سرعت سبزشدن به‌شدت افزایش می‌یابد، به صورتی که تا روز ۸۰، حدود ۵۰ درصد پیازها سبز می‌شوند. می‌توان با قراردادن توده‌های قندوز و حنایی هرات در دمای ۵ درجه، درصد سبزشدن را به حدود ۱۰ درصد کاهش داد. در دمای انبار معمولی، بیشتر توده‌ها با سرعت زیادی شروع به سبزشدن کرده‌اند، به صورتی که در توده بومی قرمزهرات، ۳۵ روز، در توده‌های حنایی هرات، قرمز کابل، سرپل، بلخاب و قرمزآذرشهر، ۵۰ روز و در توده‌های بومی زردهرات، مزارشریف و رقم سویت‌گرانو، حدود ۷۵ روز پس از شروع انبارداری حدود ۵۰ درصد از سوخ‌ها سبز شدند (شکل ۸).



شکل ۵- روند سبزشدن پیازها در فواصل مختلف انبارداری در دو شرایط دمایی مختلف

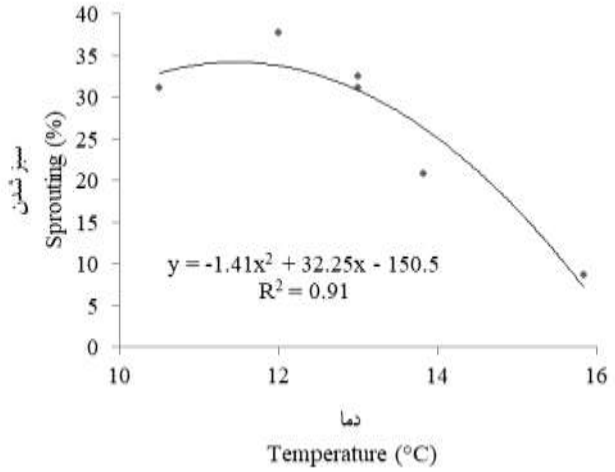
Figure 5- Trend of sprouting in different storage intervals in two different temperature conditions



شکل ۶- مقایسه درصد سبزشدن کل، در ارقام مختلف پیاز در دو شرایط دمایی مختلف بعد از چهار ماه

Figure 6- Comparison of total sprouting of different onion cultivars under two different temperature condition after four months

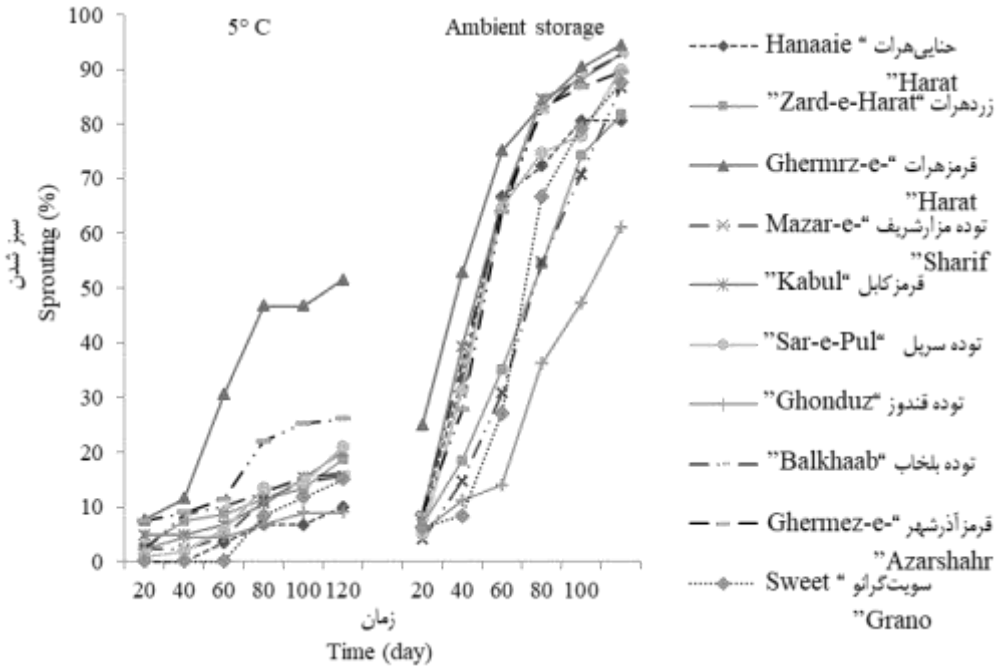
(LSD, *p≤0.05*)



شکل ۷- رابطه بین میانگین دمای انبار معمولی و درصد سبزشدن ارقام مختلف پیاز

Figure 7- Relationship between ambient storage temperature and percentage of sprouting of different onion cultivars

۵۰ درصد سبزشدن توده قندوز در دمای انبار معمولی، تقریباً بعد از ۱۰۵ روز، اتفاق افتاد که می‌توان این توده را به‌عنوان رقم مناسبی برای انبارداری معرفی کرد. میدما (Miedema, 1994) با مقایسه ۱۰ رقم پیاز در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد، در انبار خشک، نشان داد ۵۰ درصد سبزشدن پیازها بعد از ۱۴۹ تا ۳۱۰ روز و روی ورمی‌کولیت مرطوب بعد از ۴۹ تا ۱۵۶ روز اتفاق افتاد که تایید می‌کند خواب در ارقام مختلف با هم تفاوت دارد. باتوجه‌به شکل ۶ می‌توان گفت بین تک سوخ‌های درون هر توده نیز مدت خواب تفاوت وجود دارد. بریوستر (Brewster, 2008) نیز با بررسی نتایج محققین دیگر، این مطلب را تایید می‌کند. مدت خواب و در نتیجه‌ی آن قابلیت انبارمانی، به ژنوتیپ بستگی دارد و می‌تواند توسط اصلاح بهبود یابد (Pike, ; Brewster, 19971986).

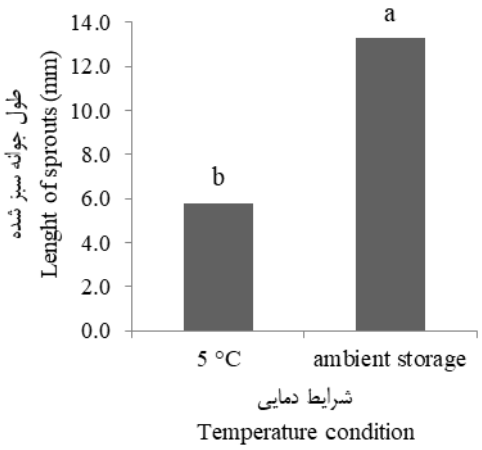


شکل ۸- روند سبزشدن ارقام مختلف پیاز خوراکی در دو شرایط دمایی ۵ درجه سانتی‌گراد و انبار معمولی از ۱۵ آبان تا ۱۵ اسفند سال ۱۳۹۰

Figure 8- Trend of sprouting of different onion cultivars under two different temperature conditions from November 6th to March 5th, 2011-2012

طول جوانه سبز شده

بین زمان‌های مختلف اندازه‌گیری، تفاوت معنی‌داری در طول جوانه سبز شده وجود نداشته است (جدول ۱). این نشان می‌دهد زمانی که رشد جوانه رویشی آغاز شد، فارغ از اینکه در چه زمانی پس از انبارداری باشد با سرعت ثابتی در هر رقم به رشد ادامه می‌دهد. بین ارقام مختلف، از لحاظ طول جوانه سبز شده تفاوت معنی‌داری وجود داشت (جدول ۱). رشد جوانه سبز شده در توده بومی حنایی هرات کمتر از سایر توده‌ها بوده است و جوانه سبز کرده در توده زردهرات بیشترین رشد را داشته است (جدول ۲). به‌طورکلی در هر رقم، رشد جوانه سبز شده در دمای بالاتر بیشتر بوده است، به‌طوری‌که طول جوانه سبز شده در دمای انبار معمولی ۲-۳ برابر دمای ۵ درجه سانتی‌گراد بوده است (شکل ۹). نتایج این تحقیق با نتایج آبدالا و من (Abdalla and Mann, 1963) که نشان می‌دهد طول جوانه سبز شده پیاز در دمای ۰ و ۳۰ درجه کمتر از دمای ۱۵ درجه است، همخوانی دارد. یو و همکاران (Yoo *et al.*, 2012) نیز با بررسی رشد جوانه در دماهای ۱، ۷، ۱۳، ۲۰، ۲۷ و ۳۴ درجه سانتی‌گراد، مشاهده کرده‌اند بیشترین رشد جوانه در دمای ۱۳ و ۲۰ درجه سانتی‌گراد رخ داده است.



شکل ۹- میانگین طول جوانه سبز شده در هر سوخ پیاز در فواصل ۲۰ روزه از ۱۵ آبان تا ۱۵ اسفند سال ۱۳۹۰

Figure 9- Average of length of sprouts in each onion bulb in 20 days intervals from November 6th to March 5th, 2011-2012 (LSD, $p \leq 0.05$)

درصد وزن جوانه سبز شده به وزن سوخ

اثر زمان بر درصد وزن جوانه سبز شده به وزن سوخ، معنی‌دار نشده است (جدول ۱). این نشان می‌دهد در تمام طول دوره انبارداری، با آغاز رشد جوانه، ادامه رشد یکنواخت بوده است. در ارقام مختلف، درصد وزن جوانه سبز شده به وزن سوخ تفاوت معنی‌داری با هم دارند (جدول ۱). نتایج مورکوت و گورپاتی (Murkute and Gorrepati, 2018) نشان داد خصوصیات بیوشیمیایی ۳۴ رقم پیاز ضمن تفاوت‌های اولیه، قبل و بعد از ۳ ماه انبارداری تغییر می‌کند و بین ارقام تفاوت‌های معنی‌داری وجود دارد. تفاوت در خصوصیات بیوشیمیایی از جمله مواد جامد محلول، ترکیب قندها و فنول کل سوخ‌های ژنوتیپ های مختلف پیاز و روند تغییر آنها طی انبارداری، در شکستن خواب و سرعت سبزشدن ژنوتیپ های مختلف پیاز نقش دارد (Benkeblia *et al.*, 2005McCallum *et al.*, 2001 ; ; Murkute and Gorrepati, 2018). احتمالاً در این آزمایش نیز تفاوت‌های بیوشیمیایی ارقام و توده‌ها سبب تفاوت در سرعت رشد جوانه و نسبت تبدیل مواد ذخیره‌ای سوخ به رشد رویشی شده باشد. این نسبت در توده قرمزهرات بیشتر از سایر توده‌ها بوده است و کمترین میزان به توده حنایی هرات مربوط می‌باشد (جدول ۲). اثر دما بر درصد وزن جوانه سبز شده به وزن سوخ کاملا مشخص و معنی‌دار است. در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد، وزن جوانه سبز شده در همه توده‌ها کمتر از ٪ ۰/۶ وزن سوخ است اما در دمای انبار معمولی در توده قرمزهرات به حدود ٪ ۱/۹ می‌رسد. این موضوع نشان می‌دهد دمای ۵ درجه سانتی‌گراد، در مقایسه با دمای انبار معمولی توانسته است فعالیت جوانه رویشی را به‌شدت کاهش دهد که مانع مصرف مواد ذخیره‌ای و سبزشدن پیازها می‌شود. یو و همکاران (Yoo *et al.*, 2012) نیز کاهش رشد جوانه رویشی پیاز طی انبارمانی در دمای ۱ و ۷ درجه سانتی‌گراد در مقایسه با ۱۳ و ۲۰ درجه سانتی‌گراد را گزارش کردند.

نتیجه‌گیری

بررسی اثر متقابل زمان اندازه‌گیری و شرایط دمایی انبار، نشان داد کاهش وزن پیازها در دمای انبار معمولی در ابتدا و انتهای دوره انبارداری بیشتر بود اما در دمای ۵ درجه، طبق یک مدل خطی در انتهای دوره کاهش یافت. درصد سبزشدن در دمای انبار معمولی در فواصل ابتدایی دوره انبارداری با سرعت زیاد افزایش یافت، اما در فواصل انتهایی انبارداری ثابت شد. میانگین طول جوانه سبز شده و وزن جوانه سبز شده به وزن سوخ تحت‌تأثیر زمان قرار نگرفتند و جوانه با آغاز رشد در همه فواصل انبارداری، به رشد یکنواخت ادامه داد. اثر رقم بر همه صفات اندازه‌گیری شده معنی‌دار بود. این موضوع نشان‌دهنده‌ی تنوع زیاد ژنتیکی بین توده‌های موجود در قابلیت انبارمانی است. پیازها در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد نسبت به دمای انبار معمولی کمتر آب از دست دادند، کمتر سبز شدند و نسبت کمتری از مواد ذخیره‌ای‌شان، به مصرف جوانه سبز شده رسید؛ بنابراین از لحاظ اقتصادی توصیه می‌شود پیازها در دمای پایین انبار شوند. در مجموع، پیاز توده بومی قندوز نسبت به دیگر توده‌ها و حتی رقم تجاری سویت‌گرانو، قابلیت انبارمانی بیشتری از خود نشان داد که نشان می‌دهد قابلیت انبارمانی بعضی از توده‌های بومی پیاز مورد بررسی نسبت به ارقام معروف تجاری بیشتر است. این موضوع اهمیت ذخیره ژنی موجود در توده‌های بومی افغانستان را مشخص می‌کند.

منابع

1. Abdalla A.A., and Mann L.K. 1963. Bulb Development in the Onion (*Allium cepa* L.) and the Effect of Storage Temperature on Bulb Rest. Hilgardia 35(5): 85–112. https://doi.org/10.3733/hilg.v35n05p085.
2. Baninasab B., Plant M.R.-A.J. of and 2006, U. 2006. The effect of high temperature on sprouting and weight loss of two onion cultivars. American Journal of Plant Physiology 1: 199–204.
3. Benkeblia N., Onodera S., and Shiomi N. 2005. Variation in 1-fructo-exohydrolase (1-FEH) and 1-kestose-hydrolysing (1-KH) activities and fructo-oligosaccharide (FOS) status in onion bulbs. Influence of temperature and storage time. Journal of the Science of Food and Agriculture Journal Science Food Agriculture 85: 227–234. https://doi.org/10.1002/jsfa.1959.
4. Benkeblia N., Varoquaux P., Gouble B., and Selselet-Attou G. 2000. Respiratory parameters of onion bulbs (*Allium cepa*) during storage. Effects of ionising radiation and temperature. Journal of the Science of Food and Agriculture 80(12): 1772–1778. https://doi.org/10.1002/1097-0010(20000915)80:12<1772::AID-JSFA700>3.0.CO;2-5.
5. Brewster J.L. 1997. Onions and Garlic. In Wien, H.C. (Ed), The Physiology of Vegetable Crops, pp. 581–619. Wallingford, UK: CAB International.
6. Brewster J.L. 2008. Onions and Other Vegetable Alliums. Wallingford, UK: CAB International.
7. Chope G.A., Terry L.A., and White P.J. 2007. The effect of 1-methylcyclopropene (1-MCP) on the physical and biochemical characteristics of onion cv. SS1 bulbs during storage. Postharvest Biology and Technology 44(2): 131–140. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2006.11.012.
8. Forudi B.R. 2005. Study on quantitative and qualitative characters of onion cultivars and determination of the relationship between some character and storability. Seedling and Seed 22: 67–86. (In Persian)
9. Gorrepati K., Murkute A.A., Bhagat Y., and Gopal J. 2018. Post-harvest losses in different varieties of onion. Indian Journal of Horticulture 75(2): 314-318. https://doi.org/10.5958/0974-0112.2018.00052.X.
10. Gubb I.R., and MacTavish H.S. 2002. Onion pre- and postharvest consideration. In Rabinowitch H. D. and Currah, L. (Eds), Allium Crop Science: Recent Advances, pp. 233–265. Wallingford, UK: CAB International.
11. Ko S., Chang W., Wang J., Cherng S., and Shanmugasundaram S. 2002. Storage variability among short-day onion cultivars under high temperature and high relative humidity, and its relationship with disease incidence and bulb characteristics. Journal of the American Society for Horticultural Science 127(5): 848–854. https://doi.org/10.21273/JASHS.127.5.848.
12. McCallum J.A., Grant D.G., McCartney E.P., Scheffer J., Shaw M.L., and Butler R.C. 2001. Genotypic and environmental variation in bulb composition of New Zealand adapted onion (*Allium cepa*) germplasm. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science 29(3): 149–158. https://doi.org/10.1080/01140671.2001.9514173.
13. Miedema P. 1994. Bulb dormancy in onion. I.The effects of temperature and cultivar on sprouting and rooting. Journal of Horticultural Science 69(1): 29–39. https://doi.org/10.1080/14620316.1994.11515245.
14. Murkute A.A., and Gorrepati K. 2018. Biochemical Alterations in Short Day Onion (*Allium cepa*) Varieties Under Storage. National Academy Science Letters 41(5): 313–316. https://doi.org/10.1007/s40009-018-0654-x.
15. Pike L.M. 1986. Onion Breeding. In Breeding Vegetable Crops, 357–394. USA: AVI Publishing Co.
16. Ramin A.A. 1999. Storage potential of bulb onions (*Allium cepa* L.) under high temperatures. Journal of

Horticultural Science and Biotechnology 74(2): 181–186. https://doi.org/10.1080/14620316.1999.11511092.
17. Rivera Martínez A., Fernández Paz J., and Andrés Ares J.L. 2005. Evaluation of local onion lines from northwest Spain. Spanish Journal of Agricultural Research 3(1): 90–97. https://doi.org/10.5424/sjar/2005031-128.
18. Yoo K.S., Andersen C.R., and Pike L.M. 1997. Internal CO2concentrations in onion bulbs at different storage temperatures and in response to sealing of the neck and base. Postharvest Biology and Technology 12(2): 157–163. https://doi.org/10.1016/S0925-5214(97)00046-X.
19. Yoo K.S., Lee E.J., and Patil B.S. 2012. Changes in Flavor Precursors, Pungency, and Sugar Content in Short-Day Onion Bulbs during 5-Month Storage at Various Temperatures or in Controlled Atmosphere. Journal of Food Science 77(2): C216–C221. https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02529.x.

Journal of Horticultural Science
https:// jhs.um.ac.ir

Research Article
Vol. 36, No. 1, Spring 2022, p. 15-28

Evaluation of the Replacement Ability and Comparison the Growth and Quality Characteristics of Clover Lawn with Common Grass Lawn in Landscape to Reduce the Mowing Costs

E. Saeedipooya[1], A. Tehranifar[2*], Gh.A. Gazanchian[3], F. Kazemi[4], M. Shoor[5]

Received: 27-06-2018
Revised: 27-08-2018
Accepted: 26-09-2018
Available Online: 20-06-2022

How to cite this article:
Saeedipooya E., Tehranifar A., Gazanchian Gh.A., Kazemi F., and Shoor M. 2022. Evaluation of the Replacement Ability and Comparison the Growth and Quality Characteristics of Clover Lawn with Common Grass Lawn in Landscape to Reduce the Mowing Costs. Journal of Horticultural Science 36(1): 15-28. (In Persian with English abstract)
DOI: 10.22067/JHS.2021.60852.0

Introduction

Turfgrasses, as one of the important components of urban landscapes, have played a vital role in this regard. However, the main problems of turfgrass development are the cost of turfgrass seeds, maintenance costs such as moving, as well as the high water requirement in arid and semi-arid regions. Thus, the reduction of lawn culture in the landscape is one of the decision has taken in parks and green spaces organization of Tehran, Isfahan and even Mashhad. For over ten years, researchers have been looking for alternatives to conventional grass lawns to reduce the high cost of maintenance especially irrigation cost in urban landscapes. According to many researches, one of the potential ground cover alternatives that might be used instead of turfgrass is White Clover. Clover (*Trifolium* spp.) from Fabaceae family is a genus of about 300 species.

Materials and Methods

The aim of this experiment was to compare three common turfgrasses with two clover varieties as turf replacement to reduce landscape maintenance cost specially moving cost. So, some growth and qualitative factors of clover lawn: *Trifolium repens* var. Calway and *Trifolium repens* var. Pipolina (micro clover) and three turfgrasses of *Festuca arundinacea* L. and *Lolium perenne* L. and commercial sport turf mixture (from NAk-Nederland Ltd.) were compared together. This research was conducted in randomized complete block design with three replications in the research field of the Department of Horticultural Science and Landscape Engineering, Faculty of Agricultural, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran, during 2016 and 2017. The site (59º 38′ E and 36º 16 ′ N; elevation 989 m) is located in an arid and semi- arid region with mean annual rainfall 233.8 mm and long term averages of maximum and minimum temperature are 22.5 ºC and 9.3 ºC, respectively. Turfgrass plots were established by directly sowing the seeds in April, 2016. The planting rate of the seedling considering their pure live seeds (PLS) were 45 $g.m^{-2}$ for *Lolium perenne*, 34 $g.m^{-2}$ for *Festuca arundinacea*, 6.5 $g.m^{-2}$ for *Trifolium repens*, 5.5 $g.m^{-2}$ for micro clover and 39 $g.m^{-2}$ for commercial mixture of sport turf. The plots were 1 m^2 (1m×1m) in size and were prepared after plowing and leveling the soil. The seeds were hand sown and covered with a thin layer of leaf compost and sand.

Results and Discussion

According to the results in the first evaluation of emergence percentage, *Lolium perenne* had the highest emergence percentage. After 36 days from culture, all plants had 92-98 % coverage which did not have any significant difference among grasses with clover lawns. In terms of density, uniformity and weed density, there

1, 2, 4 and 5- Ph.D. Student, Professor and Associate Professors, Department of Horticultural Science and Landscape, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: tehranifar@um.ac.ir)
3- Associate Professor, Department of Agricultural and Natural Resources Research Center, Mashhad, Iran

was no significant difference between the studied plants. In the other hands, white clover showed the best quality after clipping in both years. At the point of growth index, which have done in this experiment by measuring height and dry weight of clipping, grass lawns had the higher growth index in compered to clover lawn in both years. *Festuca arundinacea* and *Lolium perenne* had the highest growth index and white and micro clover had the lowest growth. Also, with air warming, *Festuca arundinacea* became dominated plant in height and clipping dry weight. In July, *Festuca arundinacea* produced the highest clipping dry weight by 40 $gr.m^{-2}$, *Lolium perenne* (19.52), commercial sport turf (15.68), white clover (6.24) and micro clover (0.36) $gr.m^{-2}$.

Conclusion

One of the problems of landscape is reduction of maintenance costs such as mowing. So, the low growth of white and micro clover is a positive factor in reduction of the moving costs than turfgrasses. Also, the coverage and proper density of clover lawns are similar to grass lawns and did not have a significant difference with them. The character of low growth can be effective in reduction of irrigation costs in white and micro clover, which requires more research and examination in future. This is a positive point in the white clover and micro clover that do not need to move or cut every months. Almost, clover moving is recommended for removing their flower**.** Therefore, it is recommended to use white and micro clover as a replacement with less maintenance costs in landscape. Finally, the results of cultivation of grass and clover as monoculture in this study can be used to produce clover-grass mixtures suitable for the climate of our country (arid and semi-arid regions), instead of importing turf mixtures from European countries.

Keywords: Festuca, Hight, Lolium perenne, Quality, Trifolium repens

نشریه علوم باغبانی
https:// jhs.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۶، شماره ۱، بهار ۱۴۰۱، ص ۱۵-۲۸

ارزیابی قابلیت جایگزینی و مقایسه خصوصیات رشدی و کیفی چمن‌های شبدری با چمن‌های گراسی رایج در فضای سبز به منظور کاهش هزینه‌های سرزنی

الهام سعیدی پویا[۱]- علی تهرانی فر[۲*]- غلامعلی گزانچیان[۳]- فاطمه کاظمی[٤]- محمود شور[٥]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۴/۰۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۷/۰۴

چکیده

امروزه بدلیل هزینه بالای نگهداری چمن (آبیاری و سرزنی)، شهرداری‌ها و سازمان‌های اداری در پی جایگزینی آن با سایر گیاهان پوششی می‌باشند. هدف از این آزمایش، مقایسه سه نوع چمن رایج رایگراس چندساله (رقم 'دوبل') ، فستوکای بلند (رقم 'الدرادو') و چمن مخلوط اسپورت تجاری با چمن‌های شبدری، شبدر سفید (رقم 'کالوی') و شبدر میکرو (رقم 'پیپولینا') به عنوان جایگزینی برای چمن‌ها به منظور کاهش هزینه‌های نگهداری می‌باشد. این آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه دانشگاه فردوسی مشهد اجرا شد. صفات مختلف و شاخص‌های رشد به دفعات طی سال‌های ۱۳۹۵ و ۱۳۹۶ ارزیابی شد. در ارزیابی‌های اولیه درصد سبزشدن، رایگراس چندساله بیشترین میزان را به خود اختصاص داد اما با گذشت ۳۶ روز از کشت، پوشش‌دهی تمامی گیاهان به ۹۲ تا ۹۸ درصد رسید و هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری از لحاظ درصد سبزشدن بین کرت‌های چمن‌های گراسی و شبدری نبود. از نظر تراکم، یکنواختی و میزان علف‌هرز اختلاف معنی‌داری بین گیاهان مشاهده نشد، اما از نظر کیفیت پس از سرزنی در هر دو سال، شبدر سفید بهترین کیفیت را داشت. ارتفاع و وزن خشک به عنوان شاخص‌های رشدی در هر دو سال، در چمن‌های گراسی بیش از شبدرها بود و شبدر میکرو کمترین مقادیر را نشان داد. با گرم شدن هوا، چمن تال‌فسکیو بر سایرین از نظر ارتفاع و وزن خشک غالب گردید به طوریکه در تیرماه، میزان وزن خشک چمن در هر مترمربع به ترتیب برای تال‌فسکیو معادل ۴۰، رایگراس (۱۹/۵۲)، اسپورت (۱۵/۶۸)، شبدر سفید (۶/۲۴) و شبدر میکرو (۰/۳۶) گرم بود. در نهایت، شاخص‌های رشدی در چمن‌های شبدری بسیار کمتر از گراس‌ها بود که با توجه به این رشد کم، بالطبع هزینه‌های نگهداری، بالاخص سرزنی کاهش می‌یابد. این یک نکته مثبت در ارقام شبدر سفید و میکرو است که تا ماه‌ها نیاز به سرزنی ندارد و در واقع، سرزنی به منظور حذف گل‌ها صورت می‌گیرد. بنابراین به عنوان جایگزینی با هزینه نگهداری کمتر، قابل توصیه می‌باشند.

واژه‌های کلیدی: ارتفاع، شبدر سفید، فستوکا، کیفیت، لولیوم پرنه

مقدمه

فضاهای سبز از لحاظ زیست‌محیطی به عنوان شریان‌های حیاتی شهرها محسوب می‌گردند و با توجه به روند گسترده و روز افزون شهرنشینی، ایجاد فضای سبز کلان به عنوان مهمترین عامل تعدیل‌کننده زیست محیطی شهرها، ضروری است (Dernoeden *et al.*, 1994). چمن‌ها جزء اصلی و جدایی ناپذیر اکثر فضاهای سبز شهری‌اند. جدای از بحث زیبایی آنها، نقش‌های دیگری را هم ایفا می‌کنند که از جمله می‌توان به نقش آنها در تثبیت خاک، جلوگیری از فرسایش آبی و بادی، کاهش گرد و خاک، دفع مواد سمی حاصله از سوخت وسایل نقلیه در بزرگراه‌ها و تولید اکسیژن و تهویه هوا اشاره نمود (Falahian, 2008). اما مهمترین مشکلی که در توسعه چمن‌کاری وجود دارد، گرانی بذر چمن، هزینه بالای نگهداری از جمله سرزنی و همچنین نیاز آبی بالای آن در شرایط مشکل کم‌آبی است. بدین ترتیب یکی از اقداماتی که در دستور کار سازمان پارک‌ها و فضای سبز شهر تهران، اصفهان و حتی مشهد قرار گرفته، کاهش کاشت چمن در فضای سبز است. با توجه به بررسی منابع صورت

۱، ۲، ۴ و ۵- به‌ترتیب دانشجوی دکتری تخصصی گیاهان زینتی، استاد و دانشیاران گروه مهندسی علوم باغبانی و فضای سبز، دانشگاه فردوسی، مشهد، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: tehranifar@um.ac.ir)
۳- دانشیار مرکز تحقیقات کشاورزی طرق، خراسان رضوی، ایران
DOI: 10.22067/JHS.2021.60852.0

گرفته، در بین گونه‌های معرفی شده گیاهان پوششی، مناسبترین گونه با توجه به عادت رشدی و قدرت پوشش‌دهی زمین، به منظور استفاده به عنوان گیاه پوششی در فضای سبز، گیاهانی از جنس شبدر می‌باشند. بدین ترتیب سعی و تلاش و مطالعات در این پژوهش به این سمت معطوف شد که آیا میتوان گیاهانی از جنس شبدر را به عنوان جایگزین یا مکمل چمن‌های فعلی در برخی سطوح فضای سبز استفاده نمود؟ آیا استفاده از شبدر در فضای سبز تاثیری در کاهش هزینه‌های سرزنی دارد؟ آیا میزان پوشش‌دهی و تراکم شبدر همچون چمن است و قابلیت پوشاندن کامل یک سطح را دارد؟

شَبدَرها گیاهانی متعلق به جنس تریفولیوم (*Trifolium* spp.) جزء مهمترین گیاهان علوفه‌ای خانواده لگومینوز (Leguminouseae) در مناطق معتدل و مرطوب هستند. بر اساس تحقیقات بانک ژن گیاهی و ذخایر توراثی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر تعداد گونه‌هایی که تاکنون در ایران شناخته شده حدود ۵۴ گونه است (Molazadeh, 2012). از مهمترین گونه‌های شبدر که به مناطق مختلف آب و هوایی ایران نسبت به سایرین برتری دارند می‌توان به شبدر ایرانی (*T. resupinatum* L.)، شبدر برسیم (*T. alexardrinum* L.)، شبدر سفید (*T. repens* L.)، شبدر شیرین (*T. melilotus*) و شبدر قرمز (*T. pratenses*) اشاره کرد (Khodabande, 2009). اما از این میان، مناسبترین گونه به عنوان گیاه پوششی با توجه به ارتفاع کم و سیستم رونده بودن، شبدر سفید است که از جمله گیاهان بومی مناطق سرد اروپا و آسیا است و گیاهی چند ساله با سیستم ریشه‌ای راست و مستقیم می‌باشد (Alavi *et al.*, 2009). در بین شبدرها، شبدر سفید نسبت به شرایط نامساعد محیطی مقاومترین شبدر است و نسبت به سرما و چرای مفرط دام (مترادف با پاخوری) مقاوم است و در نواحی مرطوب و خنک بهترین رشد را دارد (Hakimi Meybodi, 2009). این گیاه که از منظر محیط زیست نه تنها در افزودن میزان نیتروژن خاک و کاهش نیاز به استفاده از کودهای نیتروژنه در فضای سبز تاثیرگذار است (Heijden and Roulund, 2010; Sincik and Acikgoz, 2007) بلکه حتی قابلیت تاثیرگذار آن در پالایش خاک‌های آلوده به جیوه نیز گزارش شده است (Liu *et al.*, 2014). کشت شبدر سفید در مناطق سرد در بهار انجام می‌شود و کشت تابستانه، تنها در شرایط سرد و مرطوب موفقیت‌آمیز است و در مناطقی که زمستان‌های سختی ندارند کشت پائیزه از بهاره رایج‌تر است (Alavi *et al.*, 2009). اما میکرو شبدر یا ریز شبدرها واریته‌هایی از شبدر سفیداند که دارای برگ‌های کوچک‌ترند. شبدرها و میکرو شبدرها گیاهان سودمندی هستند که نیتروژن هوا را جذب کرده و به خاک می‌دهند (Macke, 2016) حتی میکرو شبدر قادر به تحمل سرزنی‌های نزدیک بهم است. از طرفی مطابق مطالعه سمیعیانی و همکاران (Samiyani *et al.*, 2013) در مقایسه میزان مقاومت به خشکی شبدر سفید و چمن لولیوم پرنه، مطالعات ایشان حاکی از این امر است که فعالیت آنتی اکسیدانی و میزان پرولین در شبدر سفید در مقایسه با چمن لولیوم پرنه در شرایط تنش خشکی شدید (۲۵درصد نیاز آبی گیاه (ETO) بیشتر است یا به عبارتی، شبدر سفید توان بهتری برای مقابله با شرایط تنش خشکی دارد.

میکروشبدرها قدرت تهاجمی خوبی دارند و به خوبی و با سرعت شکاف‌ها را پر میکنند و به خاطر قدرت رقابت زیاد با علف‌هرز، نیاز به علف‌کش را کاهش می‌دهند. به عبارتی شبدر یا چمن شبدری، چمنی دوستدار طبیعت است چون با کاهش هزینه‌های نگهداری راه حلی برای داشتن چمن‌های کم‌نهاده می‌باشد. چمن کم‌نهاده به چمن‌هایی اطلاق می‌گردد که میزان نهاده‌ها از جمله آبیاری، کوددهی، علف‌کش و سرزنی در آنها کاهش یافته یا به صفر برسد (Meyer, 1989; Dernoeden *et al.*, 1994).

در مطالعه‌ای در دانشگاه مریلند مشکلات احتمالی کار با میکرو شبدر را موارد زیر بیان داشتند: گلدهی زیاد آنها در تابستان (گر چه میتوان با یک سرزنی ساده گلها را حذف نمود)، همچنین گلها جاذب زنبور عسل‌اند گر چه این امر به تنوع زیستی کمک میکند اما برای افرادی که به زنبور حساسیت دارند یا مناطق بازی کودکان ناخوشایند است، همچنین حساس بودن میکرو شبدرها به سایه که نباید در زیر درختان کشت شوند (Turner and Carroll, 2015). مطالعات زیادی در سراسر جهان روی صفات کیفی و کمی چمن انجام شده، از جمله مطالعه ناول و همکاران (Newell, 1996)، مارتینلو و دآندره (Martiniello and D'Andrea, 2006)، صالحی و خوشخوی (Salehi and Khosh-Khui, 2004) و سعیدی پویا و همکاران (Saeedi Pooya *et al.*, 2016)، اما مطالعات چندانی روی مقایسه چمن و شبدر سفید بالاخص ارقام اصلاح شده و جدید آن به نام میکرو شبدر در دسترس نیست و به تازگی مطالعات روی میکرو شبدها در اروپا آغاز شده است.

در پژوهشی بر روی سازگاری شش گونه گیاه پوششی جهت کاربرد در فضای سبز، دو گونه اسفناج خاردار (*Rhagodia spinescens* R. Br.) و بیابانرو (*Furcraea giganta* K. Koch) به عنوان گونه‌های مقاوم و سازگار معرفی شدند (Khalil *et al.*, 2006). در تحقیق اذانی و همکاران (Azani, 2009) به منظور برنامه‌ریزی بهتر فضای سبز در مناطق گرم و خشک ایران، استفاده از گونه‌های گیاهی بومی مناطق گرم و خشک را علاوه بر داشتن تنوع و زیبایی به دلیل کاهش آلودگی هوا، آلودگی صوتی و نیاز کمتر به نگهداری و سازگاری بیشتر، موثرتر دانستند.

بدین ترتیب این مطالعه با توجه به اینکه اولین مطالعه روی میکرو شبدرها در ایران می‌باشد با هدف بررسی امکان جایگزینی و مقایسه شبدر سفید (شکل ۱) و میکرو به جای چمن‌های رایج، به بررسی فاکتورهای کیفی، رشدی و میزان نیاز به سرزنی (به عنوان

یکی از فاکتورهای کاهش هزینه‌های نگهداری چمن) در شرایط اقلیمی مشهد، اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در مزرعه تحقیقاتی گروه علوم باغبانی و فضای سبز دانشگاه فردوسی مشهد، با هدف بررسی قابلیت جایگزینی و مقایسه شبدر سفید به جای چمن‌های گراسی رایج، در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار، در سال ۹۵ و ۹۶ اجرا شد. مواد گیاهی مورد استفاده شامل: رایگراس چندساله (*Lolium perenne* var.*Double*)، فستوکای بلند (*Festuca arundinacea* var. *Eldorado*)، شبدر میکرو (*Trifolium repens* var. *Pipolina*)، شبدر سفید (*Trifolium repens* var. *Calway*) و چمن مخلوط تجاری اسپورت از شرکت (NAk-Nederland) بود که شامل ترکیبات زیر می‌باشد:

10% Lolium perenne DK, 10% Lolium perenne NL, 25% Festuca arundinacea DK, 11% Festuca arundinacea NL, 44% Festuca arundinacea APACHENL NL.

قبل از اقدام به کشت بذور، درصد جوانه‌زنی بذرها در پتری‌دیش و در آزمایشگاه اندازه‌گیری شد و میزان بذر مصرفی بر مبنای PLS[1] محاسبه گردید (Almansouri, 2001).

معادله (۱) PLS= (درصد خلوص × درصد جوانه زنی)/ ۱۰۰

معادله (۲) میزان بذر مصرفی در متر مربع= توصیه بذری / PLS

به طور کلی در شرایط ایده‌ال، میزان بذر مصرفی توصیه شده در یک متر مربع چمن‌کاری برای رایگراس چندساله ۳۵ تا ۴۵ گرم در متر مربع و برای فستوکای بلند حدود ۴۰ گرم در متر مربع (Morris and Shearman, 2000) و برای چمن اسپورت ۳۰، برای شبدرسفید (هر دو واریته) ۵ گرم در متر مربع توصیه شده است. با توجه به میزان توصیه شده و درصد جوانه‌زنی و خلوص بذور (جدول ۱)، میزان بذر مصرفی بر مبنای PLS برای رایگراس چندساله، فستوکای بلند، چمن اسپورت، شبدر سفید و میکرو به ترتیب معادل ۴۵، ۳۴، ۳۹، ۶/۵، ۵/۵ گرم در متر مربع بود. تهیه زمین و آماده‌سازی بستر کشت انجام و کشت بذور در فروردین ماه ۹۵ در کرت‌های ۱×۱ متر مربع انجام شد. از مخلوط ماسه و خاکبرگ نیز برای پوشش روی بذور استفاده گردید. دوره استقرار تحت شرایط آبیاری کامل در بهار ۹۵ و اندازه‌گیری صفات بدنبال آن در ماه‌های مختلف سال ۹۵ و ۹۶ صورت گرفت. همچنین مبارزه با علف‌های هرز به صورت وجین دستی انجام شد. به منظور آزمایش خاک، نمونه‌برداری از قسمت‌های مختلف زمین مزبور انجام شد و پس از ارسال به آزمایشگاه خاک‌شناسی دانشگاه فردوسی مشهد، خصوصیات خاک بدین صورت بیان گردید: بافت لومی، مقادیر شن، سیلت و رس به ترتیب ۵۱/۸۴، ۳۴، ۱۴/۱۶ درصد و pH خاک ۷/۷۵ و EC معادل ۴/۰۸ دسی‌زیمنس بر متر بود. آمار هواشناسی در جدول ۲ ارائه شده است.

این پژوهش در مزرعه به منظور بررسی خصوصیات پوششی و برخی فاکتورهای کیفی و رشدی موثر در کاهش هزینه‌های سرزنی در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. صفات مورد اندازه‌گیری شامل:

درصد سبز شدن: به خاطر غیر ممکن بودن شمارش گیاهان سبز شده در کرت با گذر زمان، سرعت سبز شدن به صورت بصری و بر مبنای درصد، هر سه روز یکبار و به تعداد ۱۳ مرتبه در طی فصل رشد در بهار (از تاریخ ۹۵/۲/۹ الی ۹۵/۳/۱۵) تا زمانی که از نظر دید بصری، درصد سبز شدن ثابت ماند، اندازه‌گیری شد. از آنجایکه از تاریخ ۲۷ اردیبهشت تا ۱۵ خرداد بین گیاهان از نظر درصد سبز شدن تفاوت معنی‌دار نبود، لذا در شکل ۱، مقادیر مابین این دو تاریخ نشان داده نشدند.

ارتفاع: این صفت با خط‌کش به سانتی‌متر محاسبه گردید. اندازه‌گیری ارتفاع چمن، پس از استقرار کامل گیاهان در اردیبهشت ماه ۹۵ شروع و طی ماه‌های مختلف رشد در سال‌های ۹۵ و ۹۶ اندازه‌گیری شد. بدین ترتیب در هر بار اندازه‌گیری در هر کرت، ارتفاع پنج گیاه از سطح زمین محاسبه و میانگین آنها در هر نوبت ثبت گردید.

صفات کیفی زیر بر مبنای NTEP با استفاده از ارزیابی بصری اندازه‌گیری شد. شاخص بصری مطابق با اعداد ۱-۹ است. عدد ۱ برای ضعیف‌ترین یا کمترین و ۹ برای بهترین یا بیشترین و اعداد ۶ به بالا اعداد قابل قبول می‌باشند (Morris and Shearman, 2000).

تراکم: عبارت است از تعداد شاخساره در واحد سطح (یک متر مربع) که به صورت بصری از ۱ تا ۹ ارزیابی شد. ۱ معادل حداقل تراکم و ۹ به معنی بیشترین میزان تراکم در واحد سطح است (Morris and Shearman, 2000).

یکنواختی: چمن با کیفیت بالا باید ظاهری یکنواخت داشته باشد، وجود مناطق عاری از چمن، وجود علف هرز، صدمه ناشی از بیماری‌ها و رشد ناهماهنگ باعث کاهش یکنواختی می‌گردد. در ارزیابی بصری عدد ۱ برای کمترین یکنواختی و عدد ۹ به بیشترین میزان یکنواختی اشاره دارد (Morris and Shearman, 2000).

میزان علف هرز: به صورت بصری از ۱ تا ۹ (۹ عدم علف هرز و ۱ غلبه علف هرز) اندازه‌گیری شد (Morris and Shearman, 2000).

1- Pure live seed

جدول ۱- برخی خصوصیات گیاهان مورد مطالعه

Table 1- Some characteristics of studied plants

Scientific name نام علمی	Common name نام معمولی	Origin منشا	1000 seed weight وزن هزار دانه	Seed germination (%) جوانه زنی	Seed purity (%) خلوص بذر	PLS (%) درصد بذر زنده خالص
Lolium perenne L. لولیوم پرنه	Rye grass رایگراس	Nak Nederland هلند	3.04	93	95	88.3
Festuca arundinaceae L. فستوکا اروندیناسه.	Tall fescue تال فسکیو	Nak Nederland هلند	1.8	91	95	86.4
Trifolium repens L. شبدر سفید	White clover شبدر سفید	Denmark دانمارک	0.61	83	95	78.8
Trifolium repens L. شبدر سفید	Micro clover شبدر سفید	Denmark دانمارک	0.72	96	95	92.1
Sport turf چمن ورزشی	Sport ورزشی	Nak Nederland هلند	1.4	81	95	76.9

جدول ۲- آمار هواشناسی مشهد در سال‌های ۹۵ و ۹۶

Table 2- Meteorological properties of Mashhad during 2016 and 2017

اسفند March	بهمن February	دی January	آذر December	آبان November	مهر October	شهریور September	مرداد August	تیر July	خرداد June	اردیبهشت May	فروردین April	
												سال ۹۵ (۲۰۱۶)
7/4	2/1	4/9	4/6	12	17/6	25	27	28/1	25/6	21/2	13/6	متوسط دما Mean Temperature (°c)
59	82	59	55	44	38	24	20	21	31	49	62	متوسط رطوبت نسبی(%) Mean RH
12/2	126/3	2/3	14/2	2	0	3/2	5/4	0	6/6	41/3	94/6	بارندگی Precipitation (mm)
												سال ۹۶ (۲۰۱۷)
									27/7	21/5	15/4	متوسط دما Mean Temperature (°c)
									25/2	37/4	62/4	متوسط رطوبت نسبی(%) Mean RH
									2/6	18/5	74/6	بارندگی Precipitation (mm)

مقاومت به سرزنی یا کیفیت پس از سرزنی: این صفت انعکاس دهنده یکنواختی و میزان تمیزی چمن پس از سرزنی است. درجه ۹ به معنی کیفیت عالی و عدد ۱ به معنی حداقل کیفیت پس از سرزنی است (Morris and Shearman, 2000).

شاخص رشد بر مبنای وزن خشک قسمت سرزنی شده: بدین منظور از کوادرات ۲۵ × ۲۵ سانتی‌متر با ارتفاع ۶ سانتی‌متر

استفاده شد. گیاهان در طی ماه‌های مختلف رشد در سال ۹۵ و ۹۶ هر ماه یک مرتبه در ارتفاع ۶ سانتی‌متری سرزنی شدند و قسمت سرزنی شده در آزمایشگاه به منظور اندازه‌گیری وزن خشک در آون در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند. با توجه به ارتفاع اندک گیاهان شبدر، تنها زمانی که ارتفاع شبدر به کوادرات می‌رسید سرزنی آنها انجام می‌شد و در صورتی که ارتفاع کوتاه‌تری از لبه کوادرات (۶ سانتی‌متر) داشتند قابل سرزنی نبودند.

شکل a۱- گیاه شبدر میکرو (سمت راست) و گیاه شبدر سفید معمولی (سمت چپ)

Figure 1 a- Microclover plant (right) and common white clover (left)

شکل b۱- کوادرات ۲۵ × ۲۵ به منظور سرزنی چمن‌ها

Figure 1 b- Quadrat 25×25 (cm) for cutting lawns

تجزیه و تحلیل آماری

به منظور تجزیه و تحلیل آماری از نرم‌افزار JMP نسخه ۸ استفاده شد. مقایسه میانگین داده‌ها در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از آزمون LSD صورت گرفت و جهت رسم نمودارها از نرم‌افزار اکسل استفاده گردید.

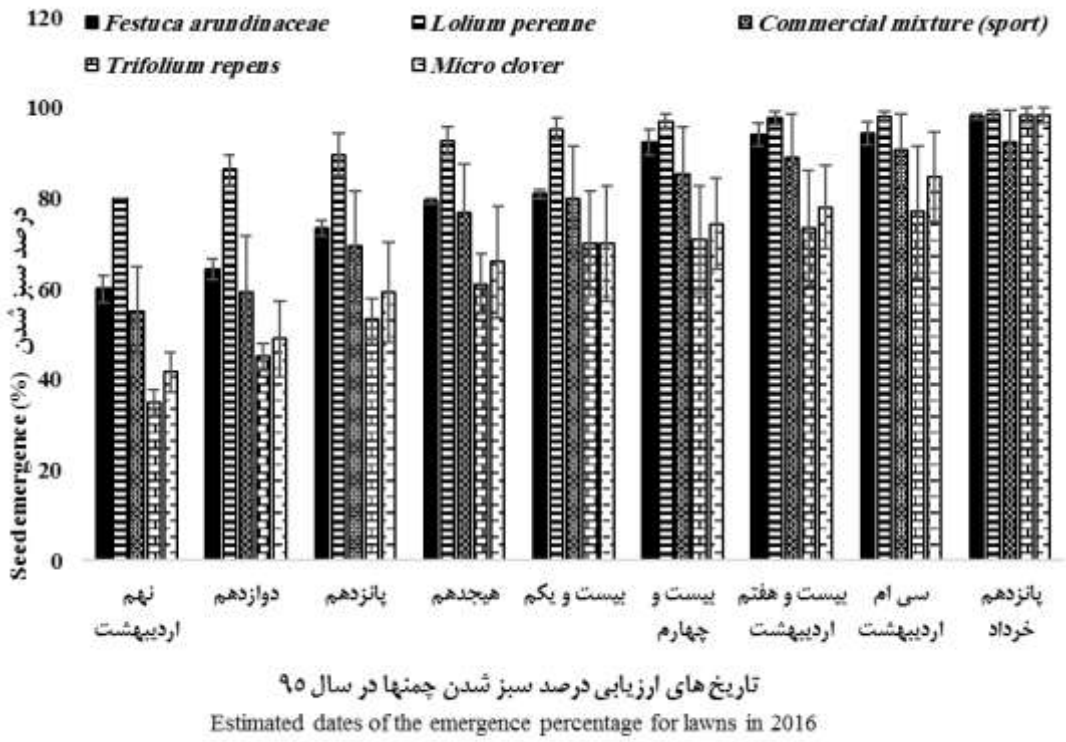
نتایج و بحث

درصد سبز شدن

مطابق نتایج آنالیز واریانس داده‌ها (جدول نشان داده نشده است)، در تاریخ ۹ و ۱۲ اردیبهشت ماه (۲۱ و ۲۴روز پس از کشت) از نظر درصد سبز شدن بین چمن‌های مورد مطالعه، در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌داری وجود داشت.

پس از آن، اختلاف چمن‌ها در تاریخ های ۱۵، ۱۸ و ۲۴ اردیبهشت ماه (۲۷، ۳۰ و ۳۳ روز پس از کشت) در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود و از تاریخ ۲۷ اردیبهشت (معادل ۳۶ روز پس از کشت) تا آخرین ارزیابی در ۱۵ خرداد ماه، اختلاف درصد سبز شدن کرت‌ها معنی‌دار نبود (لذا تاریخ‌های فی مابین این‌دو تاریخ در شکل ۲ نشان داده نشده است). تا اواخر اردیبهشت، بیشترین و کمترین درصد سبزشدن به ترتیب برای کرت‌های رایگراس چند ساله و شبدر سفید ثبت گردید و ترتیب گیاهان مورد مطالعه از نظر درصد سبزشدن در زمین به‌ترتیب مربوط به رایگراس چندساله> فستوکای بلند> چمن اسپورت تجاری> شبدر میکرو> و شبدر سفید بود (شکل ۲). اما با توجه به اینکه که درصد سبزشدن تمامی گیاهچه‌ها با گذر زمان روند افزایشی داشت و سرعت سبزشدن چمن‌های گراسی بیش از چمن-های شبدری بود. در نهایت با گذشت ۳۶ روز از کشت (تاریخ ۲۷ اردیبهشت ماه)، تمامی گیاهان بین ۹۲ تا ۹۸ درصد کرت‌ها را پوشاندند و شبدرها با سرعتی کندتر از گراس‌ها اما پس از ۳۶ روز از کشت، به همان میزان گراس‌ها، توانستند کرت‌ها را پوشش‌دهی کنند. نتایج این مطالعه با آنچه در منابع وجود دارد منطبق است که چمن رایگراس چندساله دارای سرعت جوانه‌زنی و استقرار زیادی است

(Falahian, 2008) و بـه خـاطر جوانـه‌زنـی سـریع بـذور، اغلـب در مخلوط‌های بذری بـه عنـوان پوشـش دهنـده سـریع زمـین اسـتفاده می‌شـود. مطـابق بـا مطالعـات بـراون و همکـاران (Brown *et al.*, 1989) و خواجـه‌حسـینی و همکـاران (Khajeh-Hosseini *et al.*, 2003) استقرار گیاهچه به میزان بسیار زیاد تحت تاثیر اثرات متقابـل محیط و ویژگی‌های کیفی بذر قرار دارد. شرایط بستر کاشت بذر باعث می‌گردد که بذرها از ابتدای کشت تا ظهور گیاهچه در سطح خاک بـا انواع تنش‌های زیستی و غیر زیستی از جمله خشکی، سرما، شـوری، آفات و ... مواجه گردند. بدین ترتیب بیشترین استقرار گیاهچه زمـانی حاصل می‌شود که بذر بتواند بر این شرایط نامطلوب فائق آیـد (Hall and Wiesner, 1990).



شکل ۲- تاریخ‌های ارزیابی درصد سبز شدن چمن‌های شبدری و گراسی مورد مطالعه در سال ۱۳۹۵

نوارهای خطا نشان‌دهنده خطای استاندارد در سطح یک درصد می‌باشد.

Figure 2- Estimated dates of the emergence percentage for studied clover and grass lawns in 2016

Error bars represent +/- 1 standard errors.

ارتفاع

از نظر ارتفاع، در تمامی ماه‌های اندازه‌گیری ارتفاع در سـال ۹۵ و ۹۶، اختلاف مابین چمن‌ها (گراسی و شبدری) معنی‌دار بود. در بررسی دقیق‌تر با نتایج مقایسه میانگین حاصله در شکل۳ a، چنـین برداشـت میشود که پس از استقرار کامل گیاهان در اردیبهشت ماه ۹۵ با اولـین ارزیابی ارتفاع، میزان رشد چمن مخلوط تجاری بیش از سایر گیاهـان بود و پس از آن، رایگراس چندساله و فستوکای بلند رشد بیشـتری از لحاظ ارتفاع داشتند و چمن‌های شبدری شامل شـبدر سـفید و میکـرو کمترین ارتفاع را به خود اختصاص دادند.

با گرمتـر شـدن هـوا در خـرداد مـاه ۹۵ بـه حـدود ۲۵/۶ درجـه سانتی‌گراد و کاهش رطوبت نسبی از ۴۹ درصد در اردیبهشـت بـه ۳۱ درصد در خرداد ماه (جدول ۲)، دو چمن رایگـراس و فسـتوکای بلنـد سرعت رشدشان بیشتر شد به طوری‌کـه اخـتلاف ارتفـاع چمـن‌هـای گراسی با یکدیگر بی‌معنی گردید و رشد هر سه چمن گراسی به یـک اندازه رسید، همچنین چمن‌های شـبدری سـفید و میکـرو نیـز ارتفـاع بیشتری یافتند اما باز هم کمترین ارتفاع متعلق به چمن‌های شـبدری بالاخص شبدر میکرو با ارتفاع ۶/۳۵ سانتی‌متر بود (شکل۳ a).

در شرایط تیر و مرداد با فرارسیدن ماه‌های گرم سال که دمـا بـه ترتیب به حدود ۲۸/۱ و ۲۷ درجه سانتی‌گراد (جدول ۲) رسید و میزان رطوبت نسبی افت بیشتری نشان داد در این شـرایط محیطـی، چمـن تال فسیکو توانست خود را بیش از سایر گیاهان بـا شـرایط محیطـی وفق دهد و از نظر ارتفاع با میانگین ۱۸/۳۳ و ۱۴/۸۴ سـانتی‌متـر بـر

سایرین پیشی گرفت. پس از آن چمن‌های رایگراس چند ساله و چمن مخلوط بیشترین رشد را داشتند که اختلاف این‌دو با هم بی‌معنی بود. همچنان چمن‌های شبدری کمترین ارتفاع را در این ماه‌ها به خود اختصاص دادند (شکل ۳ a).

اما مطابق شکل۳ b، از نظر میزان ارتفاع گیاهان چمنی در سال ۹۶، در دو ماه اول سال (فروردین و اردیبهشت) اختلاف بین چمن‌های گراسی اسپورت، فستوکای بلند و رایگراس چند ساله بی‌معنی بود. بیشترین ارتفاع در فروردین ماه حدود ۲۰/۱۲ سانتی‌متر مربوط به چمن اسپورت بود که این حد رشد بدلیل عدم سرزنی در فصول سرد سال و گرم شدن یکباره هوا با فرارسیدن بهار و جهش رشدی گیاهان است و کمترین مربوط به شبدر میکرو با میانگین ۸/۲۸ سانتی‌متر بود. در اردیبهشت و خرداد ماه، بیشترین ارتفاع مربوط به چمن فستوکای بلند و سپس به ترتیب مربوط به رایگراس، اسپورت تجاری، شبدر سفید و شبدر میکرو بود. در خرداد ماه، گرمای هوا باعث افزایش چشمگیر سرعت رشد چمن فستوکای بلند نسبت به سایرین شد. در نهایت ارتفاع چمن‌های گراسی در سال ۹۶ همچون سال ۹۵ بیش از چمن‌های شبدری بود و در هر سه ماه ارزیابی سال ۹۶ نیز شبدر میکرو کمترین ارتفاع را به خود اختصاص داد (میانگین ارتفاع زیر ۱۰ سانتی‌متر). همچنین در هر دو سال مطالعه، با گرم شدن هوا، چمن فستوکای بلند بر سایرین از نظر ارتفاع غالب گردید.

در واقع افزایش ارتفاع چمن فستوکای بلند را میتوان به مقاومت بیشتر این چمن به شرایط گرم و خشک هوا دانست که تورگون (Turgeon, 1999) فستوکای بلند را چمنی مقاوم به گرما، آفتاب و خشکی معرفی نموده است. مطالعات سلاح ورزی و همکاران (Selahvarzi *et al.*, 2008) نیز حاکی از مقاومت چمن فستوکای بلند به شرایط خشکی است. همچنین مطالعات آکگان و همکاران (Akgun *et al.*, 2008) روی خصوصیات جنس فستوکا و لولیوم نشان داد که در سال اول مطالعه ارتفاع گیاهان فستوکا بیش از لولیوم بود این در حالی است که این اختلاف در سال دوم مطالعه بی‌معنی شد و هر دو گیاه از نظر ارتفاع اختلافی نداشتند. از نظر سرعت رشدی مطابق نتایج سعیدی پویا و همکاران (Saeedi Pooya *et al.*, 2016) شبدر سفید از نظر ارتفاع، وزن تر و خشک نسبت به چمن لولیوم پرنه و فستوکای بلند کمترین میزان را به خود اختصاص داد که کاملا منطبق با نتایج این مطالعه می‌باشد. البته همین سرعت رشدی چمن‌ها بالاخص لولیوم پرنه و فستوکای بلند در مخلوط‌های چمنی است که منجر به افزایش هزینه‌های نگهداری از جمله سرزنی، آبیاری و کوددهی می‌گردد (Saeedi Pooya *et al.*, 2016). با توجه به اینکه گیاه شبدر یک گیاه رونده است بنابراین بیشتر رشد افقی و خوابیده دارد (Abbasi, 2009) تا رشد عمودی و این امر کاملا بدیهی است که از نظر ارتفاع قابل رقابت با گراس‌های چمنی نباشد که این امر صفتی مطلوب جهت کاهش هزینه سرزنی می‌باشد.

یکنواختی و میزان علف هرز

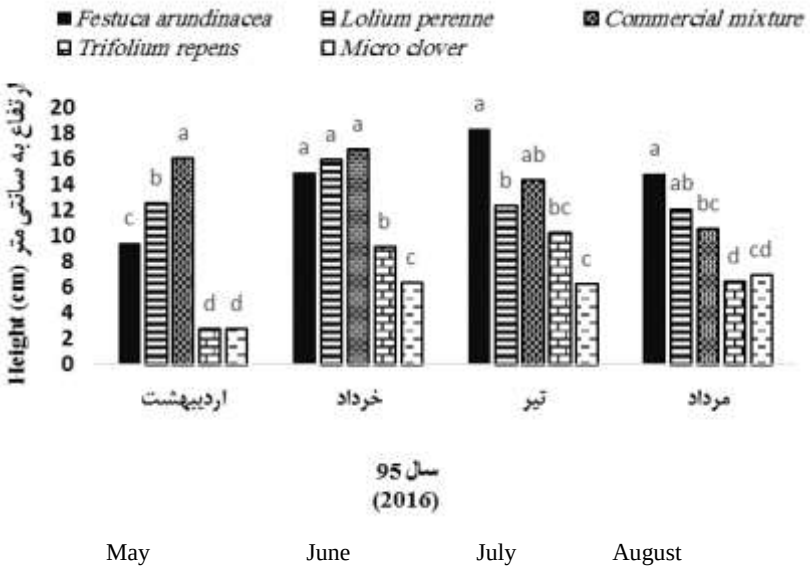
این دو صفت تحت تاثیر نوع چمن‌های مورد مطالعه اختلاف معنی‌داری نشان ندادند (جدول آنالیز واریانس نشان داده نشده).

تراکم و مقاومت به سرزنی

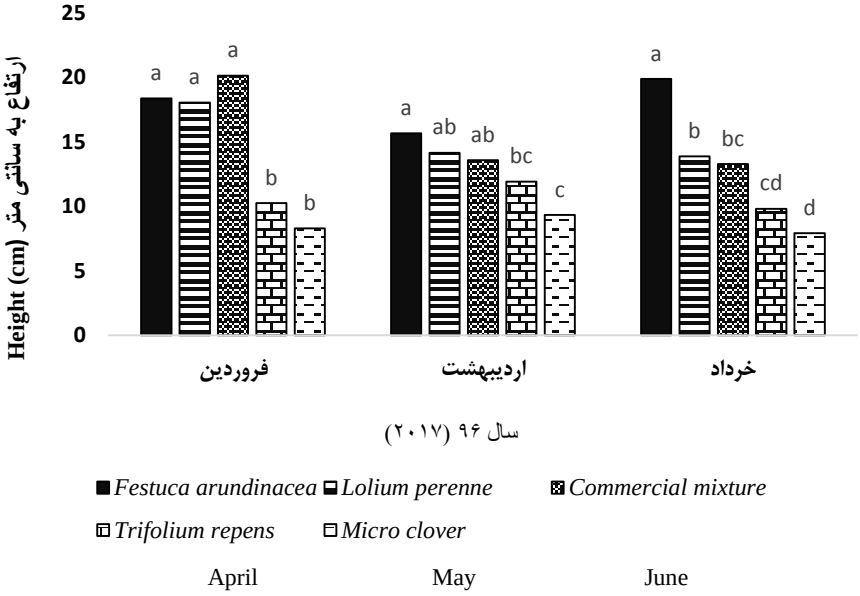
با توجه به نتایج حاصله (جدول آنالیز واریانس نشان داده نشده)، در بین چمن‌ها از نظر تراکم گیاهان در کرت‌ها تفاوت معنی‌داری در هر دو سال ۹۵ و ۹۶ مشاهده نگردید. از نظر مقاومت به سرزنی در هر دو سال مورد مطالعه، اختلاف چمن‌ها از این حیث به جز در خرداد ۹۶، در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. شکل ۴ a نشان می‌دهد که در تمامی ماه‌های مورد مطالعه بهترین کیفیت از نظر مقاومت به سرزنی مربوط به چمن شبدر میکرو و سپس شبدر سفید و کمترین کیفیت مربوط به چمن فستوکای بلند است. در فروردین و اردیبهشت سال ۹۶، طبق شکل b۴، شبدر سفید و چمن اسپورت مقاومت به سرزنی بیشتری نسبت به سایرین نشان دادند. همچنین شبدر میکرو و رایگراس چند ساله نیز در مرحله دوم کیفیت قرار داشتند و همچنان کیفیت فستوکای بلند نسبت به سایرین در پایین‌ترین رده قرار گرفت. در نهایت در مجموع دو سال ۹۵ و ۹۶، پایین‌ترین کیفیت سرزنی در چمن فستوکای بلند مشاهده شد که علت این امر را می‌توان بافت خشبی برگ‌های فستوکای بلند دانست که باعث افت کیفیت سرزنی و قهوه‌ای شدن سر برگ‌ها پس از چیدن می‌شود. در سال ۹۵ بهترین کیفیت مربوط به شبدر میکرو و سپس شبدر سفید بود و در سال ۹۶ بهترین کیفیت مربوط به شبدر سفید و چمن اسپورت ثبت گردید (شکل۴ a و b).

وزن خشک قسمت سرزنی شده

در سال ۹۵ اختلاف بین گیاهان چمنی از نظر وزن خشک در تمامی ماه‌های مورد مطالعه معنی‌دار شد. شکل a ۵، نشان می‌دهد که در ماه‌های مختلف سال ۹۵، کمترین مقادیر وزن خشک متعلق به چمن شبدر میکرو و شبدر سفید بود که اختلاف معنی‌داری در کل ارزیابی‌ها با یکدیگر نداشتند. اما از نظر بیشترین وزن خشک تولیدی، در اردیبهشت و خرداد ماه رایگراس چند ساله و چمن اسپورت بیشترین مقادیر را به خود اختصاص دادند اما با گرم شدن بیشتر هوا در تیر ماه، چمن فستوکای بلند به میزان ۵۱/۲، ۶۰/۸، ۸۴/۴ و ۹۹/۶ درصد به ترتیب بیش از رایگراس، اسپورت تجاری، شبدر سفید و میکرو، وزن خشک تولید نمود. به عبارتی دیگر، میزان وزن خشک تولیدی برای مساحت یک متر مربع چمن فستوکای بلند معادل ۴۰، رایگراس (۱۹/۵۲)، اسپورت (۱۵/۶۸)، شبدر سفید (۶/۲۴) و شبدر میکرو (۰/۳۶) گرم بود.



a



b

شکل ۳- میزان ارتفاع گیاهان چمنی به‌ترتیب در سال‌های ۱۳۹۵(a) و ۱۳۹۶ (b)

نوارهای خطا نشان‌دهنده خطای استاندارد در سطح یک درصد می‌باشد.

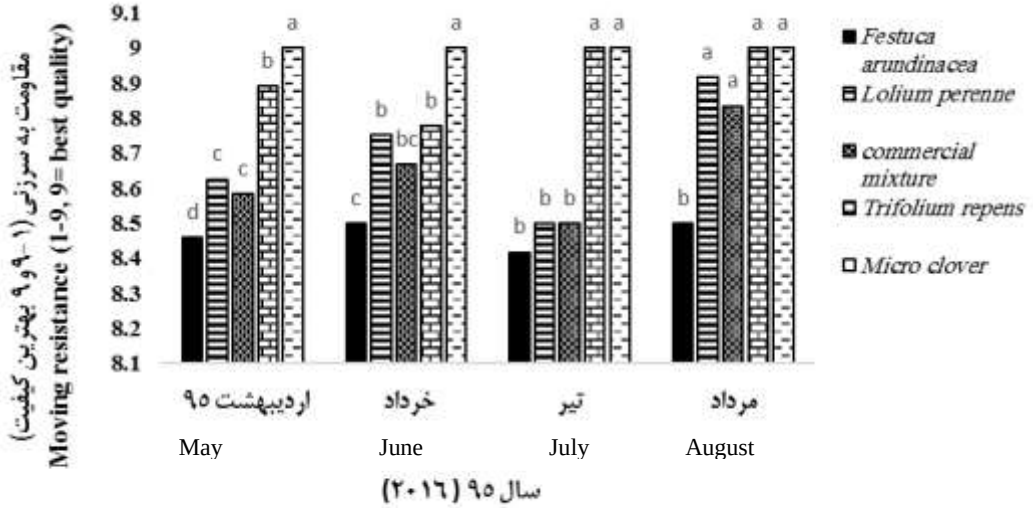
Figure 3- The lawn plant height in 2016 (a) and 2017 (b), respectively. (LSD, *p≤0.05*)

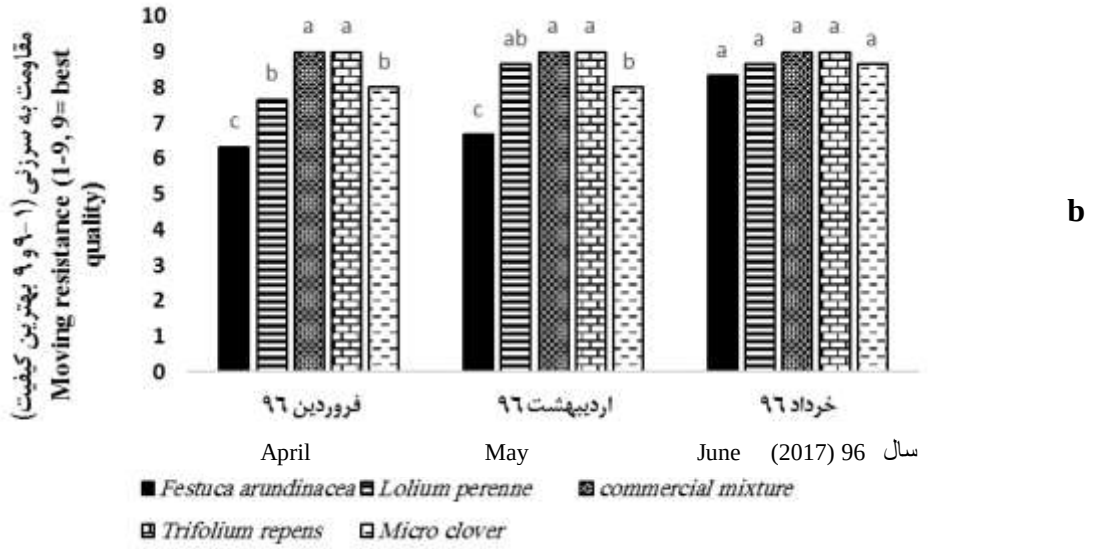
Error bars represent +/- 1 standard errors.

همچنین در مرداد ماه نیز، وزن خشک تولیدی چمن فستوکای بلند به میزان ۷۳/۷۷، ۵۹/۰۱، ۱۰۰ و ۹۶ درصد به ترتیب بیش از رایگراس، اسپورت تجاری، شبدر سفید و میکرو بود.

در ارزیابی‌های سال ۹۶، بین چمن‌ها تنها در اردیبهشت ماه اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید. در فروردین ماه اختلاف معنی‌داری بین چمن‌ها مشهود نبود که علت این امر را می‌توان پیک رشدی ناگهانی چمن‌ها با فرارسیدن فصل بهار و افزایش دمای هوا از ۷/۴ درجه سانتی‌گراد در اسفند به ۱۵/۴ درجه سانتی‌گراد در فروردین ماه ۹۶ و همچنین افزایش ۸۳/۶ درصدی بارندگی در فروردین نسبت به اسفند دانست که باعث رشد قابل توجه گیاهان و کاهش اختلاف مابین آنها شد (جدول ۲). اما در اردیبهشت ماه ۹۶، مطابق شکل b۵، به خاطر به گل رفتن کرت‌های شبدر سفید و میکرو، مقادیر وزن

خشک اندام هوایی سرزنی شده این دو شبدر به طور قابل توجهی به میزان ۱/۵ تا ۲/۹۵ برابر نسبت به سایر گیاهان چمنی افزایش یافت. پس از ارزیابی وزن خشک، تمامی کرت‌ها به طور یکدست سرزنی شدند و بدین ترتیب گل‌های شبدرها با سرزنی در اردیبهشت ماه حذف گردید.





شکل ۴- میزان مقاومت گیاهان چمنی به سرزنی به ترتیب در سال‌های ۱۳۹۵ (a) و ۱۳۹۶ (b)

نوارهای خطا نشان‌دهنده خطای استاندارد در سطح یک درصد می‌باشد.

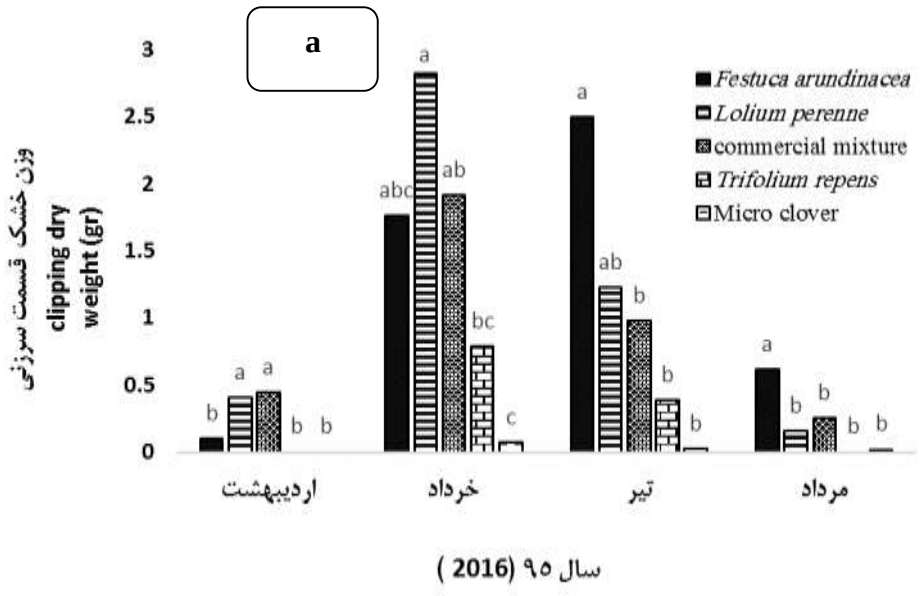
Figure 4- The lawn plant resistance to moving in 2016 and 2017, respectively. (LSD, *p≤0.05*)

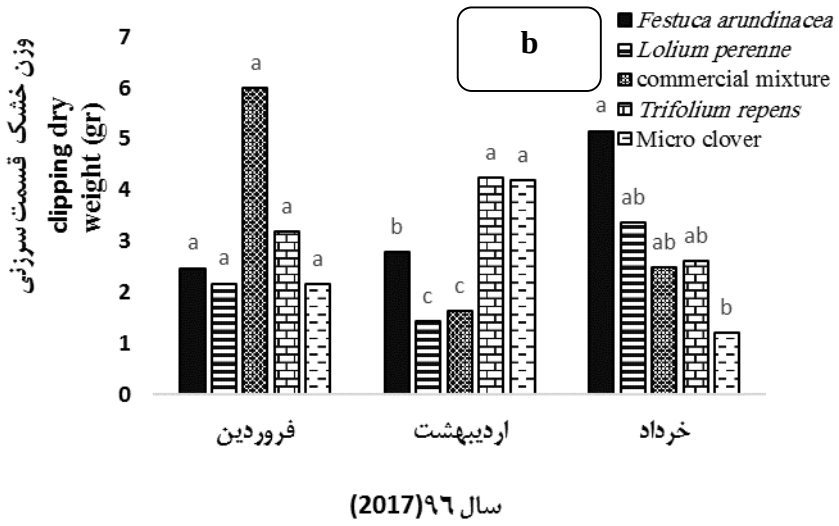
Error bars represent +/- 1 standard errors.

بدین ترتیب تا ارزیابی بعدی در خرداد ماه، بدلیل حذف شدن گل‌های شبدرها، وزن خشک این‌دو شبدر مجددا کاهش یافت که تفاوت معنی‌دار و قابل توجهی با چمن فستوکای بلند نشان داد به طوری‌که میزان وزن خشک چمن فستوکای بلند به میزان ۴۹/۶ درصد نسبت به شبدر سفید و ۷۶/۷ درصد نسبت به شبدر میکرو افزایش داشت (شکل b۵).

مطالعات سعیدی پویا و همکاران (Saeedi Pooya *et al.*, 2016) بر روی مقایسه شبدر و چمن نیز حاکی از این امر است که در مقایسه با چمن، شبدر سفید کمترین میزان وزن خشک تولیدی را به خود اختصاص داد. علت این امر همان رشد افقی و سرعت رشدی

پایین شبدر سفید در مقایسه با چمن هاست که چون از نظر رشد عمودی، سرعت رشدی شبدر سفید و میکرو بسیار کند است و به صورت رونده توسط استولون‌ها (Macke, 2016) رشد می‌کند، **بنابراین به ندرت به ارتفاعی می‌رسد که نیاز به سرزنی داشته و در** نتیجه وزن خشک حاصله از سرزنی بسیار حداقل است.





شکل ۵- میزان وزن خشک تولیدی گیاهان چمنی به ترتیب در سال‌های ۱۳۹۵ (a) و ۱۳۹۶ (b).

نوارهای خطا نشان‌دهنده خطای استاندارد در سطح یک درصد می‌باشد.

Figure 5- The clipping dry weight of the lawn plants in 2016 and 2017, respectively. (LSD, *p≤0.05*)

Error bars represent +/- 1 standard errors.

در بررسی وحدتی و همکاران (Vahdati Mashhadian *et al.*, 2011) بر روی سه نوع شبدر سفید، قرمز ایرانی و خارجی، به این امر اشاره شده و شبدر سفید را بهترین گونه با توجه به خصوصیت رونده بودن و فرم رشد جهت استفاده به عنوان گیاه پوششی و جایگزین چمن‌های گراسی معرفی نمودند.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این آزمایش حاکی از این موضوع است که چمن‌های شبدری، شاخص‌های رشدی از جمله ارتفاع و وزن خشک بسیار کمتر و کیفیت سرزنی بیشتری نسبت به چمن‌های گراسی مورد مطالعه داشتند به طوریکه در هر دو شاخص رشدی، فستوکای بلند و رایگراس چندساله بیشترین و شبدر میکرو و سفید، کمترین مقادیر رشد را به خود اختصاص دادند. کاهش هزینه‌های نگهداری از جمله سرزنی یکی از معظلات چمن‌کاری است هر چه چمن، رشد کمتری داشته باشد بالطبع هزینه‌های نگهداری از جمله کوددهی، آبیاری و سرزنی کاهش می‌یابد. این یک نکته مثبت در شبدر سفید و میکرو است که ارتفاع و حجم گیاه برداشت شده در هر نوبت سرزنی نسبت به چمن‌های گراسی بسیار اندک و ناچیز است و حتی تا ماه‌ها نیاز به سرزنی ندارند که خود حاکی از رونده بودن و رشد افقی چمن‌های شبدری می‌باشد. با این وجود، از منظر فضای سبز پارامترهای مختلف و متنوعی برای انتخاب یک گونه جهت کشت در فضای سبز شهری مطرح است بالاخص اگر بحث جایگزینی با چمن هم برای آن گونه مطرح باشد. در نهایت میتوان گفت که دو نوع شبدر سفید مورد مطالعه، پتانسیل خوبی به عنوان جایگزین چمن به عنوان گیاهی که بتواند هزینه‌های سرزنی را کاهش دهند، دارند که می‌توان کشت آنها را در فضاهای سبزکوچک و بخشی از پارک‌ها به جای چمن توصیه کرد.

سپاسگزاری

این تحقیق در قالب طرح پژوهشی شماره ۳/۳۳۴۱۴ با استفاده از اعتبارات پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد انجام شده است. نگارندگان مراتب سپاسگزاری خود را از معاونت علمی دانشگاه فردوسی مشهد اعلام می‌دارند. همچنین از دوستان عزیزی که در اجرای این پژوهش ما را یاری نمودند از جمله خانم کیانا زمانیان، خانم صالحه علیپور، آقایان حامد ابراهیم پور، علی‌اکبر قانئی و محمد جواد ابراهیمی سپاسگزاریم.

منابع

1. Abbasi M.R. 2009. Genetic diversity of clover genetic resources held by National Plant Gene Bank of Iran with emphasis on agronomic traits. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research 17(1): 70-87. (In Persian)
2. Akgun I., Tosun M., and Sengul S. 2008. Comparison of Agronomic Characters of *Festulolium*, *Festuca Pratensis* Huds. And *Lolium Multiflorum* Lam. Genotypes Under High Elevation Conditions In Turkey. Bangladesh Journal of Botany 37(1): 1-6.
3. Alavi N., Saffari Gh., and Ebrahimi S. 2009. Cultivation of Forage Plants. Sepehr Tehran Publishing House. Iran. (In Persian)
4. Almansouri M., Kinet J.M., and Lutts S. 2001. Effect of salt and osmotic stresses on germination in durum wheat (*Triticum durum* Desf.). Plant Soil 231: 243-254. https://doi.org/10.1023/A:1010378409663.
5. Azani M., Abdiyan Rad M., and Maleki M. 2009. Urban green space planning with emphasis on hot and dry areas of southern Iran. Quarterly Journal of Geographic Space 9(31): 1-26. (In Persian)
6. Brown S.C., Gregory P.J., Cooper P.J.M., and Keatinge J.D.H. 1989. Root and shoot growth and water use of chickpea (*Cicer arietinum*) grown in dryland conditions: Effects of sowing date and genotype. Agricultural Science 113: 41-49. https://doi.org/10.1017/S0021859600084598.
7. Center for Turfgrass Science. Available online at: http://plantscience.psu.edu/research/centers/turf/extension/factsheets/calculating-seed-price. Accessed 14 November, 2017.
8. Dernoeden P.D., Caroll M.J., and Krouse J.M. 1994. Moving of three fescue species for low management turf sites. Crop Science 34: 1645-1649. https://doi.org/10.2135/cropsci1994.0011183X003400060041x.
9. Domiri Ganji H., Babaei S., Metaji A., and Rashidi F. 2010. Evaluation of green space changes in Tehran's second district using aerial photos and satellite data. Journal of Natural Resources Science and Technology 5(2): 13-24. (In Persian)
10. Ellis R.A., and Roberts E.H. 1981. The quantification of ageing and survival in orthodox seeds. Seed Science and Technology 9: 373-409. DOI: 10.4236/ahs.2013.23014.
11. Falahian A. 2008. Lawn (Technology, construction and maintenance). Jahad publication of Ferdowsi university of Mashhad. Iran.
12. Haghighi M. 2004. The use of mushroom vermicompost (SMC) for the cultivation of grass by hydromalching. Master's Degree in Horticulture, Ferdowsi University of Mashhad Iran. (In Persian)
13. Hakimi Meybodi M.H., and Sadeghi Nia M. 2009. Identification of pasture plants of Iran. University Publication Center. 189. (In Persian)
14. Hall R.D., and Wiesner L.E. 1990. Relationship between seed vigor tests and field performance of Regard meadow bromegrass. Crop Science 30: 967-970. https://doi.org/10.2135/cropsci1990.0011183X003000050001x.

15. Heijden S.A., and Roulund N. 2010. Genetic gain in agronomic value of forage crops and turf. In: C. Huyghe (ed.). A Review of Sustainable Use of Genetic Diversity. Forage and Turf Breeding 247-260.
16. Khajeh-Hosseini M., Powell A.A. and Bingham I.J. 2003. The interaction between salinity stress and seed vigor during germination of soybean seeds. Seed Science Technology 31: 715-725. http://dx.doi.org/10.15258/sst.2003.31.3.20.
17. Khalil M., Bhat N.R., Abdal M.S., Grina R., Al-mulla L., Al-Dossery S., Bellen R., Cruz R., D'Cruz G., George A., and Christopher A. 2006. Evaluating the suitability of groundcovers in the arid environments of Kuwait. European Journal of Science Research 15: 412-419.
18. Khodabande N. 2009. Cultivation of forage plants. Iranian Agricultural Science publication .307. (In Persian)
19. Khorramdel S., Nezami A., and Mollafilabi A. 2014. Evaluation of Germination Characteristics for some Khorasan's Cumin (*Cuminum cyminum* L.) Seed Landraces under Fall Planting Dates .Research in Crop Ecosystem 1(1): 55-67. (In Persian)
20. Khosh-Khui M. 2005. Plant propagation: Principle and practices. Shiraz University, Iran. (In Persian)
21. Liu Z., Wang CH., and Li- ao. 2014. A plant species (*Trifolium repens*) with strong enrichment ability for mercury. Ecological Engineering 70: 349-350. DOI : 10.1016/j.ecoleng.2014.06.029.
22. Macke J.A. 2016. Evaluation of a cool-season grass-white clover mixture for low-nitrogen input lawns. MSc thesis. Purdue University. Indiana.
23. Martiniello P., D'Andrea E. 2006. Cool-season turf grass species adaptability in Mediterranean environments and quality traits of varieties. European journal of Agronomy, 25: 234–242. https://doi.org/10.1016/j.eja.2006.05.006.
24. Meyer W.A. 1989. Breeding disease-resistant, persistent low-maintenance turf. Ground- Maint, 24: 68- 139.
25. Molazadeh M. 2012. Forage Trees (Comprehensive Reference of Crops): Volume 3. Publications on education and agricultural promotion. (In Persian)
26. Morris K.N., and Shearman R.C 2000. NTEP Turfgrass Evaluation Guidelines. Available online at: www.ntep.org/pdf/ratings. Accessed: 30 August, 2013.
27. Newell A.J., Crossley F.E.M., and Jone A.C. 1996. Selection of grass species, cultivars and Mixtures for lawn tennis court. Journal of Sport Turf Research Institution 72: 42-60.
28. Riahinia Sh., Khazaee H.R., and Razmjoo KH. 2011. Effect of salinity on germination and seedling growth of populations of turfgrasses. Iranian Journal of Field Crops Research 9(2): 222-228. (In Persian)
29. Saeedi Pooya E., Tehranifar A., Gazanchian A., Kazemi F., and Shoor M. 2016. The investigation of growth and aesthetics factors of cover plant of white clover compared with different grasses for use in urban landscape. 1 st international and 2nd national ornamental plants congress. 1-5. (In Persian)
30. Saeedi Pooya E., Tehranifar A., Shoor M., Selahvarzi Y., and Ansari H. 2013. The use of native turf mixtures to approach sustainable lawn in urban landscape. Journal of Urban Forestry and Urban Greening 12: 532-536. DOI: 10.1016/j.ufug.2013.06.009.
31. Salehi H., and Khosh-Khui M. 2004. "Turf monoculture cool-cool and cool-warm season seed mixture establishment and growth responses. Horticulteral Science 39(7): 1732-1735. https://doi.org/10.21273/HORTSCI.39.7.1732.
32. Samiyani A., Ansari H., Azizi M., Hasheminia S.M., and Selahvarzi Y. 2013. Effect of drought stress on some biochemical indices in four species of cover plants (*Lolium Perenne*, Potentila, White Clover and Frankenia) with green field use ability. Science and Technology of Greenhouse Culture 15: 101-101. (In Persian)
33. Selahvarzi Y., Tehranifar A., Ghazanchian A., and Arooei H. 2008. Drought resistance mechanisms of native and commercial turfgrasses under drought stress: I. Root responses. Journal of Horticulture 22(2): 1-12. (In Persian)
34. Sincik M., and Acikgoz E. 2007. Effects of white clover inclusion on turf characteristics, nitrogen fixation, and nitrogen transfer from white clover to grass species in turf mixtures. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 38: 1861– 1877. https://doi.org/10.1080/00103620701435621.
35. Tehran Parks and Green space organization. 2006. Lawning principles. Islamic Republic army publication. Iran. (In Persian)
36. Turgeon A.J. 1999. Turfgrass management. Prentic Hall, Englewood Cliffs, NJ.
37. Turner T., and Carroll M. 2015. Microclover-tall fescue lawn in the mid- Atlantic region, university of Marylan
38. Vahdati Mashhadian N., Tehranianfar A., Nemati H., and Selahvarzi Y. 2011. Effect of salinity stress on morphological, physiological and biochemical responses of three types of clover (vegetation cover) with potential for use in green spaces. Master's Thesis. Mashhad Ferdowsi University. Iran. (In Persian)

Journal of Horticultural Science
https:// jhs.um.ac.ir

Research Article
Vol. 36, No. 1, Spring 2022, p. 29-41

Investigation of Morpho-Physiological Properties of Peppermint (*Mentha piperita* L.) Affected by Carbon Sources of Ethanol and Methanol

V. Akbarpour[1]*, M. Motaharinezhad[2], M.A. Bahmanyar[3]

Received: 15-04-2020
Revised: 13-10-2020
Accepted: 08-01-2022
Available Online: 20-06-2022

How to cite this article:
Akbarpour V., Motaharinezhad M., and Bahmanyar M.A. 2022. Investigation of Morpho-Physiological Properties of Peppermint (*Mentha piperita* L.) Affected by Carbon Sources of Ethanol and Methanol. Journal of Horticultural Science 36(1): 29-41. (In Persian with English abstract)
DOI: 10.22067/JHS.2022.61778.0

Introduction

Nowadays, spraying method is used in plant nutrition to optimize the use of chemical fertilizers and reduce environmental hazards. With the foliar solution, the elements are quickly transferred to the plant and delivered to the branch, leaf, or fruit. Surveys show that increase performance per unit area is one of the most important things that has attracted the attention of many researchers. The first requirement for high performance is high dry matter production per unit area. Some experiments have shown that increasing the amount of carbon dioxide in the air can increase yield, accelerate flowering and accumulate carbohydrates in plants. One of the solutions to increase carbon dioxide concentrations in plants is to use compounds such as ethanol and methanol. Therefore feeding plants with alcohols such as ethanol and methanol as carbon sources is one of the appropriate methods to increase their quantitative and qualitative properties.

Materials and Methods

Due to the importance of peppermint (*Mentha piperita* L.) in the production of valuable secondary metabolites, and also the effect of ethanol and methanol on some morphological and physiological parameters of this plant, a pot experiment was conducted in factorial based on completely randomized design with three replications in the research greenhouse of Shahed University in 2018. Foliar treatments included different concentrations of 0, 15, 30 and 45% ethanol, methanol and combine them that was done in three stages. The studied traits were plant height, number of leaves per plant, biological yield, chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll, carotenoid, flavonoid, essential oil percentage, essential oil yield and protein percentage. Data analysis was performed using SAS statistical software (version 9.2) and mean treatments were compared by LSD test. Also charts were drawn by excel software.

Results and Discussion

The results showed that the simple effects of ethanol and methanol on plant height, biological yield, flavonoid content, essential oil percentage, essential oil yield and protein percentage were significant but their interactions were not significant. Ethanol 45% had the most effect on percentage and yield of essential oil and protein percentage. But the use of 15% ethanol treatment had the highest value in other traits (plant height, total phenol and flavonoids), which was at a statistical level with 45% methanol treatment. Also interaction between ethanol and methanol on leaf number per plant, chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll and carotenoid was significant at 1% probability level. The highest number of leaves per plant and chlorophyll a (29.55 µg/g fresh leaf weight) was observed in the combination of 15% ethanol and 15% methanol, while the highest amount of chlorophyll b (20.86 µg/g fresh leaf weight) and total chlorophyll (49.85 µg/g fresh leaf weight) was related to

1- Assistant Professor of Horticultural Sciences and Engineering Department, Faculty of Crop Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran
(*- Corresponding Author Email: v.akbarpour@sanru.ac.ir)
2- M.Sc. Student of Medicinal Plants, Sana Institute of Higher Education, Sari. Iran
3- Professor, Department of Soil Sciences, Faculty of Crop Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

the combined application of 15% ethanol and 45% methanol.

Conclusion

Foliar spraying is one of the methods of fertilization and supply of nutrients to plants that due to high absorption rate nutrients can be made available to plants in the shortest time. The results of this study showed that all the studied traits were significantly affected by one or more of the ethanol and methanol treatments. Therefore, the foliar application of ethanol and methanol as carbon sources has an important role in improving the qualitative and quantitative parameters of peppermint.

Keywords: Ethanol, Methanol, Peppermint, Secondary metabolite, Spray

نشریه علوم باغبانی
https:// jhs.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۶، شماره ۱، بهار ۱۴۰۱، ص ۴۱-۲۹

بررسی خصوصیات مورفو- فیزیولوژیکی نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) تحت تأثیر منابع کربنی اتانول و متانول

وحید اکبرپور[۱*]- مصطفی مطهری‌نژاد[۲]- محمدعلی بهمنیار[۳]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۱/۲۷
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۰/۱۸

چکیده

تغذیه گیاهان با الکل‌هایی نظیر اتانول و متانول به عنوان منابع کربنی یکی از روش‌های مناسب جهت افزایش خصوصیات کمّی و کیفی آن‌ها می‌باشد. با توجه به اهمیت گیاه دارویی نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) در تولید متابولیت‌های ثانویه باارزش و همچنین تأثیر اتانول و متانول بر برخی خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی این گیاه، آزمایشی گلدانی در قالب فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه شاهد در سال ۱۳۹۷ انجام شد. تیمارهای محلول‌پاشی شامل غلظت‌های مختلف صفر، ۱۵، ۳۰ و ۴۵ درصد از اتانول و متانول بود. نتایج نشان داد که اتانول ۴۵ درصد بیشترین تأثیر را بر درصد اسانس، عملکرد اسانس و درصد پروتئین داشت. ولی استفاده از تیمار ۱۵ درصد اتانول بالاترین مقدار را در سایر صفات (ارتفاع بوته، فنل و فلاونوئید کل) به خود اختصاص داد که با تیمار ۴۵ درصد متانول در یک سطح آماری قرار داشت. همچنین بیشترین تعداد برگ و کلروفیل a در تیمار تلفیقی ۱۵ درصد اتانول و ۱۵ درصد متانول مشاهده شد، در صورتی‌که بالاترین میزان کلروفیل b و کلروفیل کل مربوط به کاربرد تلفیقی ۱۵ درصد اتانول و ۴۵ درصد متانول بود. بنابراین، با توجه به اثر مثبت محلول‌پاشی اتانول و متانول در خصوصیات رشدی گیاه نعناع فلفلی، استفاده از این ترکیبات الکلی توصیه می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: اتانول، متانول، متابولیت ثانویه، محلول‌پاشی، نعناع فلفلی

مقدمه

نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) از جمله گیاهان دارویی ارزشمند خانواده Lamiaceae است که بومی مناطق معتدله دنیا به ویژه اروپا، آمریکای شمالی و شمال افریقا می‌باشد، اما امروزه در سراسر دنیا کشت می‌گردد (Mehrafarin *et al.*, 2011). برگ و سرشاخه‌های گل‌دار و اسانس این گیاه در صنایع دارویی و غذایی کاربرد دارد و افزایش کمّی و کیفی اسانس آن در طی تکنیک‌های زراعی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (Shah and Mello, 2004). منتول و منتون اصلی‌ترین اجزاء اسانس بوده و خواص ضد میکروبی دارند (Dai *et al.*, 2010; Tarhan *et al.*, 2010). طبق استاندارد سازمان گیاه درمانی اروپا[۴]، مقدار منتول، معیار اصلی در تعیین کیفیت نعناع فلفلی است که می‌توان با به‌کارگیری شرایط رشدی مناسب در راستای افزایش عملکرد کمّی و کیفی آن گام برداشت (Kumar *et al.*, 2004).

یکی از این فاکتورهای زراعی مؤثر در رشد و افزایش عملکرد کمّی و کیفی گیاهان، محلول‌پاشی با استفاده از منابع کربنی است. در سال‌های اخیر اطمینان از تولید پایدار فرآورده‌های غذایی سالم همراه با حفظ محیط‌زیست و توجه به مناسبات اجتماعی و اقتصادی موضوع قابل توجهی در علوم مختلف مانند کشاورزی، اکولوژی و محیط زیست بوده و مورد توجه روزافزون کشاورزان، پژوهشگران و

۱- استادیار گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
(*- نویسنده مسئول: Email: v.akbarpour@sanru.ac.ir)
۲- دانشجوی کارشناسی ارشد گیاهان دارویی، مؤسسه آموزش عالی سنا، ساری
۳- استاد گروه مهندسی علوم خاک، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

DOI: 10.22067/JHS.2022.61778.0

4- European Scientific Cooperative on Phytotherapy

سیاست‌گذاران قرار گرفته است (Nourafkan and Kalantari, 2017). اولین شرط جهت دستیابی به عملکرد بالا در واحد سطح، تولید ماده خشک زیاد است، زیرا حدود ۹۰ درصد وزن خشک گیاهان ناشی از آسیمیلاسیون دی‌اکسیدکربن توسط فتوسنتز می‌باشد و نقش رنگیزه‌های گیاهی اعم از کلروفیل‌ها و کارتنوئید در این امر بسیار مهم است. در نتیجه افزایش سرعت تثبیت دی‌اکسیدکربن برای بالا بردن ظرفیت تولید گیاهان زراعی می‌تواند مفید واقع گردد (Pilehvari *et al.*, 2008; Ramirez *et al.*, 2006). آزمایش‌های متعددی نشان داد که افزایش میزان دی اکسیدکربن در هوا منجر به افزایش عملکرد، تسریع گلدهی و تجمع کربوهیدرات در گیاهان می‌شود (Abbasian *et al.*, 2016). یکی از راه‌کارهای افزایش غلظت دی‌اکسیدکربن در گیاهان، استفاده از ترکیباتی مانند اتانول و متانول است. اتانول و متانول از جمله ساده‌ترین الکل‌ها محسوب می‌شوند. متانول به صورت فرمالدهید و دی‌اکسیدکربن در گیاه اکسید شده و به صورت اسیدهای آمینه سرین و میتونین و کربوهیدرات‌ها در بافت‌های مختلف گیاهان سه کربنه سنتز می‌شود (Nazari Moghadam, 2014). همچنین، پژوهش‌ها نشان داده است اتانول پس از نفوذ به درون بافت گیاه تبدیل به فرمالدهید شده و این ترکیب در نهایت به دی‌اکسیدکربن، اکسید می‌گردد. دی‌اکسیدکربن تولید شده باعث افزایش غلظت دی‌اکسیدکربن داخلی برگ شده که این فرآیند منجر به افزایش راندمان فتوسنتزی می‌شود (Mehrafarin *et al.*, 2015).

نام قدیم متانول، الکل چوب بود که نشان دهنده منشأ گیاهی این ماده است (Dorokhov *et al.*, 2015). تا سال‌های اخیر، متانول ساطع شده از گیاهان به عنوان یک محصول جانبی بیوشیمیایی تلقی می‌شد، اما مطالعات در دهه گذشته نقش آن را به عنوان یک مولکول سیگنال در ارتباط گیاه و محیط پیرامون نشان داده است. علاوه بر این، متانول در فرآیندهای شیمیایی متابولیک در طول رشد و نمو گیاه شرکت می‌کند. همچنین در زمان ایجاد تنش در گیاهان، ژن‌های القایی متانول[1] در گیاه فعال شده و سبب مقاومت گیاه در برابر عوامل زنده و غیرزنده می‌شود (Dorokhov *et al.*, 2018). نقش متانول در کنترل رونویسی ژن‌های مقاومت در گیاه *Arabidopsis thaliana* در پاسخ به تنش‌های زیستی نیز به اثبات رسیده است (Deleris *et al.*, 2016). برخلاف مشارکت متانول در فرآیندهای اپی‌ژنتیکی، در سال‌های اخیر مطالعات انجام شده بر روی مشارکت پکتین‌ها و پکتین متیل استرازها در تشکیل متانول، به نقش مهم متانول در رشد گیاهان و همچنین پاسخ آنها به اثرات تنش اختصاص یافته است (Dorokhov *et al.*, 2015; Komarova *et al.*, 2014). مشارکت متانول در رشد و نمو، توسط عملکرد پکتین‌ها در تشکیل دیواره سلولی تعیین می‌شود (Kim and Brandizzi, 2016; Atmodjo *et al.*, 2013). نقش پکتین‌ها در رشد و نمو آرابیدوپسیس به اثبات رسیده است به‌طوری‌که در گیاهان جهش‌یافته که رشد مطلوبی ندارند، سنتز پلی‌ساکاریدهای پکتین مختل می‌شود (Saffer, 2018). سلول‌های گیاهی می‌توانند الکل‌هایی نظیر متانول را جذب کرده و آنها را تبدیل به برخی از ترکیبات گروه متیل مانند متیلن تتراهیدروفولات، متیل تتراهیدروفولات و S-آدنوزیل متیونین کنند. این ترکیبات نیز سبب تولید سرین و متیونین می‌شوند. سرین سبب تولید ساکارز شده و متیونین نیز پیش‌ماده تولید اتیلن می‌باشد (Gout *et al.*, 2000).

الکل‌ها می‌توانند به عنوان یکی از نهاده‌های مورد نظر در نظام‌های کشاورزی ارگانیک و یا نیمه‌ارگانیک به کار گرفته شوند. محلول‌پاشی گیاه دارویی سرخارگل (*Echinacea purpurea* L.) به واسطه استفاده از تیمارهای هیدروالکلی اتانول و متانول اثری توجیه‌پذیر در استفاده از این فن‌آوری در افزایش عملکرد زراعی این گیاه داشته است و نیز به دلیل متابولیزه شدن کامل متانول به اجزای خود و تبدیل شدن به اسیدهای آمینه در گیاهان اثر گذار است (Khosravi *et al.*, 2012). در پژوهشی دیگر مشخص شد که محلول‌پاشی شنبلیله (*Trigonella foenum*-graecum L.) با متانول ۴۰ درصد سبب افزایش تعداد ساقه فرعی، تعداد برگ، وزن خشک بوته، عملکرد دانه، عملکرد موسیلاژ و ارتفاع بوته می‌شود (Mehrafarin *et al.*, 2015). همچنین محلول‌پاشی تیمارهای هیدرواالکلی سبب افزایش میزان اسانس، تیمول و کاواکرول آویشن باغی (*Thymus vulgaris* L.) شد (Sajedi *et al.*, 2012).

پژوهش‌ها نشان داده که محلول‌پاشی با الکل‌ها به‌ویژه اتانول و متانول، یکی از راه‌های مؤثر و مناسب در افزایش تولید محصولات کشاورزی به‌خصوص گیاهان دارویی می‌باشد. در همین راستا و به دلیل اهمیت گیاه دارویی نعناع فلفلی پژوهشی به‌منظور بررسی اثرات محلول‌پاشی اتانول و متانول بر ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیکی نعناع فلفلی صورت پذیرفت.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی تأثیر منابع مختلف کربنی (اتانول و متانول) بر برخی خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه دارویی نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.)، آزمایشی گلدانی در قالب فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه شاهد در سال ۱۳۹۷ انجام شد. در این پژوهش تیمارهای محلول‌پاشی شامل غلظت‌های مختلف صفر، ۱۵، ۳۰ و ۴۵ درصد از اتانول و متانول بود که در سه مرحله برای هر یک از این ترکیبات صورت گرفت. محلول‌پاشی تیمار شاهد نیز با آب مقطر انجام شد.

1- Methanol Inducible Genes

مرحله اول محلول‌پاشی یک ماه پس از کشت، و دو مرحله بعدی در طی فصل رشد گیاه با فواصل ۱۴ روز انجام شد (Nourafkan and Kalantari, 2017).

مرحله برداشت نیز در اوج دوره رویشی (سه ماه پس از کشت) صورت گرفت. برای اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی از روش آرنون (Arnon, 1967) استفاده شد. براساس این روش مقدار ۰/۲ گرم نمونه تازه با ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد هموژن گردیده و در نهایت میزان جذب عصاره سانتریفیوژ شده توسط اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۴۷۰، ۶۴۶ و ۶۶۳ نانومتر قرائت شد و با استفاده از فرمول‌های زیر میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئید محاسبه گردید.

$$Chl\ a = (12.25\times A663.2 - 2.79\times A646.8)$$

$$Chl\ b = (21.50\times A646.8 - 5.1\times A663.2)$$

$$Total\ chl = (7.15\times A663.2 + 18.71\times A646.8)$$

$$Carotenoid = (1000\times A470 - 1.82\times Chl\ a - 85.02\times Chl\ b)/198$$

به منظور سنجش پروتئین، به ۱۰۰ میلی‌لیتر بافر تریس ۰/۵ مولار با pH معادل ۶/۸، ۲ گرم SDS افزوده و حل شد. ۲۰۰ میکرولیتر از بافر استخراج به نمونه‌های تازه برگ در دمای ۴ درجه سانتیگراد افزوده شد. سپس محلول‌ها به مدت ۲۰ دقیقه با دور ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. به ۵ میلی‌لیتر محلول برادفورد، ۱۰۰ میکرولیتر عصاره فوق اضافه و پس از ۳۰ دقیقه در شرایط آزمایشگاه، جذب عصاره فوق در طول موج ۵۹۵ نانومتر اندازه‌گیری و با استفاده از منحنی استاندارد مقدار پروتئین برحسب میلی‌گرم بر گرم بافت تر برگ محاسبه گردید. با حل نمودن ۱ میلی‌گرم پودر سرم آلبومین گاوی (BSA) با ۵ میلی‌لیتر آب مقطر دوبار تقطیر، محلول استاندارد پروتئین تهیه شد (Bradford, 1976). اسانس‌گیری با استفاده از روش کلونجر صورت گرفت و درصد اسانس موجود در هر نمونه تعیین گردید. جهت اندازه‌گیری فلاونوئید کل نیز از روش ابراهیم‌زاده و همکاران استفاده شد (Ebrahimzadeh *et al.*, 2010).

تجزیه و تحلیل داده‌ها، با برنامه آماری SAS (نسخه ۹/۲) انجام شد و میانگین تیمارها توسط آزمون LSD مورد مقایسه قرار گرفت. رسم نمودارها نیز توسط نرم‌افزار Excel انجام گردید.

نتایج و بحث

ارتفاع گیاه: نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر ساده اتانول و متانول بر ارتفاع گیاه به ترتیب در سطح احتمال یک و پنج درصد معنی‌دار بود ولی اثر متقابل آنها بر این صفت غیرمعنی‌دار بود (جدول ۱).

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر محلول‌پاشی ترکیبات اتانول و متانول بر ویژگی‌های مورفو-فیزیولوژیکی گیاه نعناع فلفلی

Table 1- ANOVA (Mean Squares) for foliar application of ethanol and methanol on morpho-physiological characteristics of peppermint

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean squares										
		ارتفاع گیاه Plant height	تعداد برگ در بوته Number of leaves per plant	عملکرد بیولوژیک Biological yield	کلروفیل a Chl a	کلروفیل b Chl a	کلروفیل کل Total chl	کاروتنوئید Carotenoid	فلاونوئید Flavonoid	درصد اسانس Essential oil percentage	عملکرد اسانس Essential oil yield	درصد پروتئین Protein percentage
اتانول Ethanol (E)	3	69.9**	2240.5**	8.1*	243.6*	42.4*	454.9**	43.4**	126.9**	0.49**	283.6*	39.4**
متانول Methanol (M)	3	46.7*	1205.4**	6.1*	26.6*	55.9*	147.9*	13.6**	78.5**	0.09ns	89.3ns	8.2*
E × M	9	14.9ns	252.2**	3.1ns	48.7**	40.8*	122.3*	16.4**	7.1ns	0.01ns	21.6ns	2.7ns
خطای آزمایش Error	30	14.6	53.4	2.1	11.2	18.7	43.6	2.7	5.9	0.07	67.6	2.9
ضریب تغییرات C.V (%)	–	9.9	27.2	10.3	14.9	25.2	19.1	21.4	16.1	18.9	19.5	19.3

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

and ns : significant at the 5% and 1% of probability levels and non-significant, respectively **, *

جدول مقایسه میانگین اثر ساده اتانول بر ارتفاع گیاه نشان داد که بیشترین ارتفاع گیاه مربوط به تیمار ۱۵ درصد حجمی اتانول (۴۰/۴۵ سانتی‌متر) بود که از لحاظ آماری با دیگر تیمارها به جز تیمارهای آب مقطر و ۴۵ درصد اتانول اختلاف معنی‌داری نداشت. همچنین کمترین آن مربوط به تیمار ۴۵ درصد حجمی اتانول (۳۵/۰۴ سانتی‌متر) بود که با تیمار آب مقطر (شاهد) در یک سطح آماری قرار داشت (جدول ۲). بر اساس جدول مقایسه میانگین با افزایش غلظت اتانول و متانول از ارتفاع گیاه کاسته شد.

مشارکت متانول در رشد و نمو، توسط عملکرد پکتین‌ها در تشکیل دیواره سلولی تعیین می‌شود (Kim and Brandizzi 2016;

Atmodjo, 2013). نقش پکتین‌ها در رشد و نمو آرابیدوپسیس به اثبات رسیده است به‌طوری‌که در گیاهان جهش‌یافته که رشد مطلوبی ندارند، سنتز پلی‌ساکاریدهای پکتین مختل می‌شود (Saffer, 2018). محلول‌پاشی متانول به‌طور غیرمستقیم نیز باعث تحریک باکتری‌های متیل تروفیک می‌شود که روی اکثر برگ‌های گیاهان زندگی می‌کنند. این باکتری‌ها مقداری از متانول موجود در برگ‌ها را مصرف می‌کنند و از طریق تولید اکسین و سیتوکینین، باعث رشد گیاه می‌شوند (Abbasian *et al.*, 2016; Ivanova *et al.*, 2001).

جعفری مرندی و مجد (Jafari Marandi and Majd, 2008) اظهار داشتند به‌کار بردن تیمارهای سبک الکلی (اتانول ۳ درصد) باعث تسریع رشد گیاهان و افزایش طول و ضخامت ساقه در گل‌های شاخه بریده میخک (*Dianthus caryophyllus* L.) می‌شود. صفرزاده ویشکائی (Safarzadeh Vishkaee, 2007) گزارش کردند که ارتفاع بوته در بادام زمینی (*Arachis hypogae*) پس از محلول‌پاشی متانول به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. در مطالعه‌ای دیگر گزارش شد که کاربرد متانول ۳۰ درصد در پنبه (*Gossypium hirsutum* L.) موجب افزایش ارتفاع بوته شد. مخدوم و همکاران (Makhdum *et al.*, 2002) علت این امر را در آسیمیلاسیون بیشتر کربن و رقابت بیشتر گیاهان برای دریافت نور دانستند. افزایش سرعت رشد و ارتفاع محصول پس از محلول‌پاشی متانول به علت افزایش غلظت دی‌اکسیدکربن در برگ‌ها و استفاده از متانول به عنوان یک منبع مستقیم در سنتز اسیدآمینه سرین و کاهش هدررفت کربن از طریق تنفس نوری می‌باشد. به نظر می‌رسد که محلول‌پاشی متانول، با افزایش تولید سیتوکینین موجب افزایش تقسیم سلولی، تحریک رشد و افزایش ارتفاع در گیاهان می‌شود (Nadali *et al.*, 2010).

جدول ۲- اثر محلول‌پاشی ترکیبات اتانول و متانول بر ویژگی‌های مورفو-فیزیولوژیکی گیاه نعناع فلفلی

Table 2- The effect of foliar application of ethanol and methanol on morpho-physiological traits of peppermint

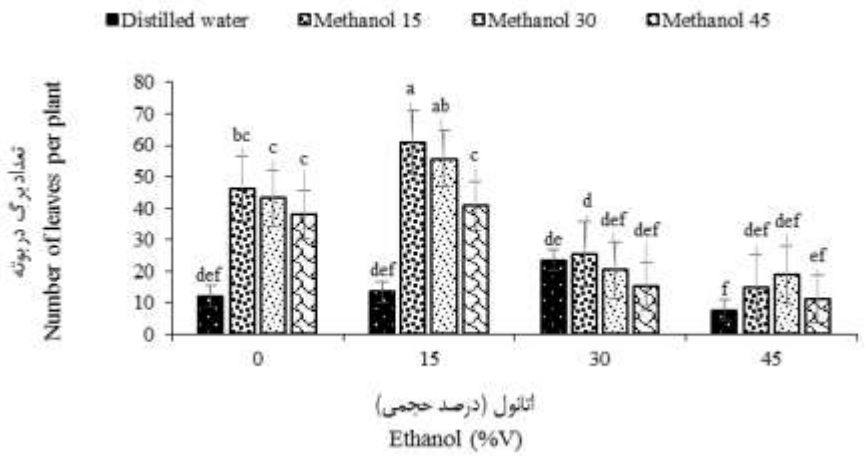
تیمارهای آزمایشی Experimental treatments	ارتفاع گیاه Plant height (cm)	عملکرد بیولوژیک Biological yield (g.plant^{-1})	فلاونوئید Flavonoid (mg quercetin.g^{-1} FW)	درصد اسانس Essential oil percentage	عملکرد اسانس Essential oil yield (mg.plant^{-1})	درصد پروتئین Protein percentage
شاهد (آب مقطر) Control (Distilled water)	36.32^{b}	13.09^{b}	12.44^{c}	1.35^{b}	39.06^{b}	7.43^{b}
اتانول Ethanol (%V)						
15	40.45^{a}	15.18^{a}	18.42^{a}	1.32^{b}	39.69^{b}	7.26^{a}
30	39.01^{a}	14.16^{ab}	11.61^{b}	1.42^{b}	40.79^{b}	10.22^{a}
45	35.04^{b}	13.95^{b}	17.15^{a}	1.76^{a}	49.47^{a}	10.70^{a}
متانول Methanol (%V)						
15	40.91^{a}	14.74^{a}	13.91^{bc}	1.33^{b}	39.87^{b}	9.21^{ab}
30	39.25^{ab}	14.42^{a}	15.42^{b}	1.51^{ab}	45.27^{ab}	9.92^{a}
45	37.73^{ab}	14.21^{ab}	18.42^{a}	1.53^{ab}	43.85^{ab}	8.37^{b}

در هر ستون، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک با هم اختلاف معنی‌داری ندارند.

In each column, the means with similar letters are not significantly different

تعداد برگ در بوته: نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که اثر ساده و متقابل اتانول و متانول بر تعداد برگ در بوته در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. بیشترین تعداد برگ در بوته مربوط به تیمار تلفیقی اتانول ۱۵ و متانول ۱۵ درصد حجمی (۶۱ عدد در بوته) و کمترین آن مربوط به تیمار تلفیقی اتانول ۴۵ درصد حجمی و آب مقطر (۷/۶ عدد در بوته) بود (شکل ۱). در شرایط تلفیقی بدون اتانول (آب مقطر) هرچه قدر غلظت متانول افزایش یافت، از تعداد برگ در بوته کاسته شد. در تیمارهای تلفیقی اتانول ۱۵ درصد حجمی و نیز ۳۰ درصد حجمی، متانول با غلظت ۱۵ درصد حجمی اثر تحریک‌کننده بر این صفت داشت اما با افزایش غلظت متانول از تعداد برگ در بوته کاسته شد. اما در شرایط تلفیقی اتانول با غلظت ۴۵ درصد حجمی، اعمال متانول تا غلظت ۳۰ درصد حجمی سبب تأثیر افزاینده بر تعداد برگ در بوته گردید و با افزایش غلظت به ۴۵ درصد حجمی از تعداد برگ کاسته شد.

آزمایشی به منظور بررسی اثر محلول‌پاشی متانول (در چهار غلظت) بر کیفیت و عملکرد گیاه ترخون (*Artemisia dracunculus* L.) انجام پذیرفت و بر اساس آن مشخص شد که محلول‌پاشی این ترکیب بر تعداد برگ اثر معنی‌داری داشت و بیشترین میانگین این صفت در کاربرد متانول ۴۰ درصد مشاهده شد (Moradi and Ebadati Esfahani, 2016).



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر متقابل محلول‌پاشی اتانول و متانول بر تعداد برگ گیاه در بوته در گیاه نعناع فلفلی

(میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک با هم اختلاف معنی‌داری ندارند)

Figure 1- Comparison of the mean of interaction of ethanol and methanol foliar application on number of leaves per plant in peppermint (LSD, p≤0.05)

(In each column, the means with similar letters are not significantly different)

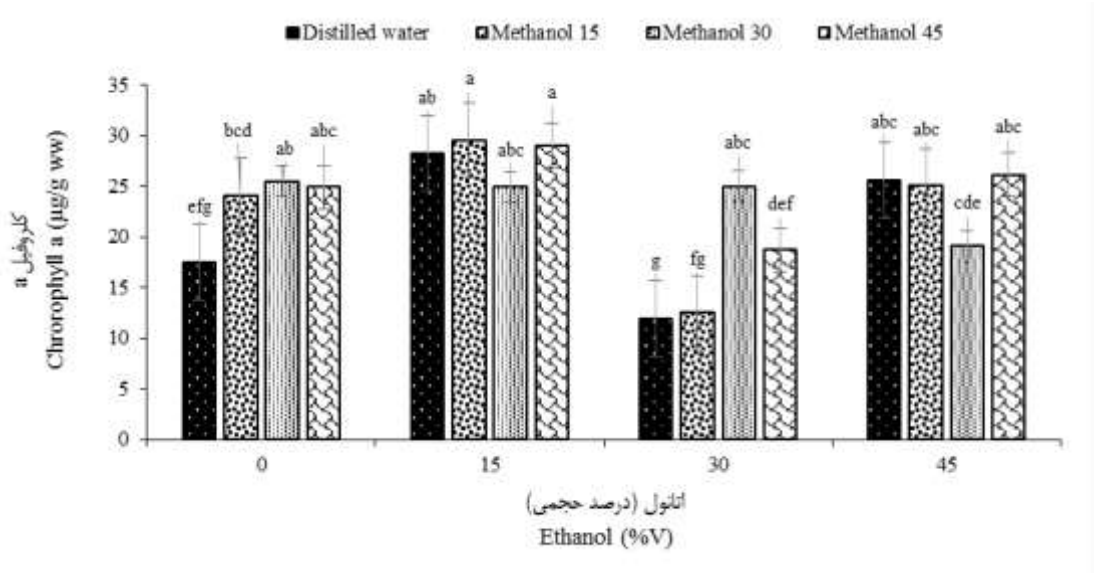
برخی مطالعات نشان داد که با مصرف متانول سرعت رشد گیاه و نیز تعداد برگ در گیاه بادام زمینی به مقدار بیشتری افزایش یافت زیرا متابولیسم متانول منجر به افزایش قندسازی در برگ‌ها می‌شود و این امر سبب افزایش مقدار آماس سلولی بافت و افزایش سرعت آسیمیلاسیون و رشد در گیاهان تیمار شده با آن می‌گردد (Ramirez *et al.*, 2006). بر اساس یافته‌های حاصل از پژوهش نورافکن و کلانتری (Nourafkan and Kalantari, 2017) اثر مثبت و معنی‌دار محلول‌پاشی الکل به خصوص در غلظت‌های ۳۰ درصد اتانول و متانول در تعداد برگ در گیاه دیده شد. همچنین استفاده از اتانول و متانول سبب افزایش تعداد برگ در گیاه دارویی آویشن شد (Sajedi Moghadam *et al.*, 2012). بنابراین استفاده از منابع کربنی و محرک رشد می‌تواند سبب افزایش زیست‌توده و عملکرد گیاهان گردد.

عملکرد بیولوژیک: بر اساس نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) مشخص شد که اثر ساده تیمارهای الکلی اتانول و متانول بر عملکرد بیولوژیک گیاه نعناع فلفلی در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود ولی اثر متقابل این تیمارها بر صفت عملکرد بیولوژیک غیرمعنی‌دار شد. بالاترین عملکرد بیولوژیک مربوط به تیمار اتانول با غلظت ۱۵ درصد حجمی (۱۵/۱۸ گرم در بوته) بود که از لحاظ آماری با سایر غلظت‌های متانول و نیز اتانول ۳۰ درصد اختلاف معنی‌داری نداشت (جدول ۲).

برخی از مطالعات نشان داده که هم تولید زیست‌توده و هم فعالیت فتوسنتزی در جلبک‌ها در غلظت‌های پایین متانول افزایش یافته است (Theodoridou *et al.*, 2002). خسروی و همکاران (Khosravi *et al.*, 2012) گزارش کردند که محلول‌پاشی الکل‌هایی نظیر متانول به عنوان یک منبع کربنی و محرک زیستی می‌تواند باعث افزایش بیوماس و عملکرد گیاه دارویی سرخارگل شود. نادعلی و همکاران (Nadali et al., 2010) اظهار داشتند که استفاده از محلول‌پاشی متانول در چغندرقند (*Beta vulgaris* L.) میزان وزن و عملکرد محصول را افزایش می‌دهد. پژوهش‌ها حاکی از این است که گیاهان تیمار شده با متانول می‌توانند فتوسنتز خالص خود را افزایش دهند و عملکرد خود را بهبود بخشند. متانول سبب افزایش راندمان تبدیل کربن می‌شود، در واقع متانول از مولکول دی‌اکسیدکربن کوچکتر است لذا می‌تواند به راحتی توسط گیاهان سه کربنه به عنوان منبع کربن جهت افزایش عملکرد ماده خشک گیاهان، مورد استفاده قرار گیرد. همچنین متانول با ایجاد تأخیر در پیری برگ‌ها، فعالیت فتوسنتزی برگ‌ها را تشدید کرده و از این راه عملکرد بیولوژیک را افزایش می‌دهد (Nonomura and Benson, 1992). کاربرد متانول می‌تواند سبب افزایش وزن تر و خشک گیاهان شود. یکی از مهم‌ترین دلایل تجمع ماده خشک در اثر کاربرد متانول، مختل شدن تنفس نوری و در نتیجه افزایش ماده خشک می‌باشد (Nazari Moghadam, 2014). در پژوهشی که بر روی گیاه آویشن باغی صورت گرفت مشخص شد که بیشترین عملکرد ماده خشک در واحد سطح در تیمار ۳۰ درصد متانول و ۲۰ درصد اتانول به‌دست آمد (Sajedi Moghadam *et al.*, 2012). در پژوهش‌های مختلفی نشان داده شده است که عملکرد و رشد در گیاهان سه کربنه تحت تأثیر محلول‌پاشی با متانول افزایش یافت و این امر شاید به این دلیل باشد که متانول به عنوان منبع کربن در این گیاهان محسوب می‌گردد

(Abbasian *et al.*, 2016).

کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل: نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان که اثر متقابل اتانول و متانول بر کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. مقایسه میانگین اثر متقابل اتانول و متانول بر کلروفیل a نشان داد که بیشترین کلروفیل a مربوط به تیمار تلفیقی اتانول ۱۵ و متانول ۱۵ درصد حجمی (۲۹/۵۵ میکروگرم بر گرم وزن تر برگ) و ۱۵ درصد اتانول با ۴۵ درصد متانول (۲۸/۹۹ میکروگرم بر گرم وزن تر برگ) بود. همچنین کمترین میانگین این صفت در تیمار تلفیقی اتانول ۳۰ درصد و آب مقطر (۱۱/۹۳ میکروگرم بر گرم وزن تر برگ) مشاهده شد (شکل ۲).



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل محلول‌پاشی اتانول و متانول بر میزان کلروفیل a در گیاه نعناع فلفلی

(میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک با هم اختلاف معنی‌داری ندارند)

Figure 2- Comparison of the mean of interaction of ethanol and methanol foliar application on chlorophyll a in peppermint (LSD, p≤0.05)

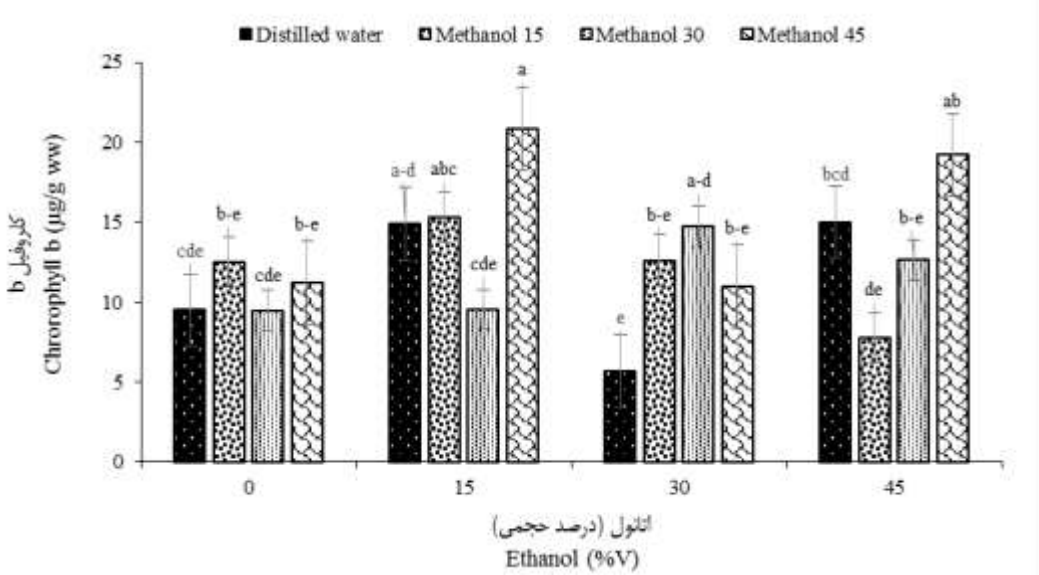
(In each column, the means with similar letters are not significantly different)

مقایسه میانگین اثر متقابل اتانول و متانول بر کلروفیل b نشان داد که بیشترین کلروفیل b مربوط به اتانول ۱۵ و متانول با غلظت ۴۵ درصد حجمی (۲۰/۸۶ میکروگرم بر گرم وزن تر برگ) و کمترین آن مربوط به اتانول ۳۰ درصد حجمی و آب مقطر (۵/۷ میکروگرم بر گرم وزن تر برگ) بود (شکل ۳).

همچنین مقایسه میانگین اثر متقابل اتانول و متانول بر کلروفیل کل ثابت کرد که بیشترین کلروفیل کل مربوط به اتانول ۱۵ و متانول ۴۵ درصد (۴۹/۸۵ میکروگرم بر گرم وزن تر برگ) و کمترین آن مربوط به اتانول ۳۰ درصد و آب مقطر (۱۷/۶۴ میکروگرم بر گرم وزن تر برگ) بود (شکل ۴).

از دلایل افزایش مقدار کلروفیل در اثر محلول‌پاشی متانول، وجود متابولیسم تک‌کربنه در گیاهان است. ساخت کلروفیل در برگ گیاه به وجود اسیدآمینه S–آدنوزیل متیونین وابسته است. این اسیدآمینه به کمک آنزیم آدومتیونین سنتتاز در چرخه متابولیسم تک‌کربنه ساخته می‌شود و اسیدآمینه متیونین پیش‌ماده ساخت آن است. در این چرخه متانول با تبدیل به اسید فورمیک با تتراهیدروفولیت ترکیب شده و طی فرآیندی زمینه ساخت متیونین را فراهم می‌کند (Chen et al., 1997; Hanson and Roje, 2001). برخی از مطالعات نشان داده که هم تولید زیست‌توده و هم فعالیت فتوسنتزی در جلبک‌ها در غلظت‌های پایین متانول افزایش یافته است (Theodoridou *et al.*, 2002). همچنین استفاده از محلول‌پاشی متانول سبب افزایش کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل در برگ‌های گیاه انگور (*Vitis vinifera*) گردید (Ramadan and Omran, 2005). باقری و همکاران (Bagheri *et al.*, 1997) گزارش کردند که محلول‌پاشی ترکیبات کربنی متانولی در چهار غلظت صفر، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ درصد در پنج نوبت بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی اعم از کلروفیل a، کلروفیل b، و کلروفیل کل اثر معنی‌داری داشت که بالاترین میانگین این صفات در غلظت‌های ۱۰ و ۲۰ درصد مشاهده شد. در پژوهشی دیگر گزارش شده است که مقدار بیوسنتز کلروفیل در گیاه بادرنجبویه (*Mellisa officinalis* L.) با افزایش غلظت تیمار متانول ۵۰ درصد

روند افزایشی داشته است ولی در گیاه سرخارگل بیشترین میزان بیوسنتز کلروفیل تحت اعمال تیمار متانول ۳۰ درصد بوده است و غلظت‌های بالای الکل باعث کاهش در بیوسنتز کلروفیل شده است (Khosravi *et al.*, 2012).

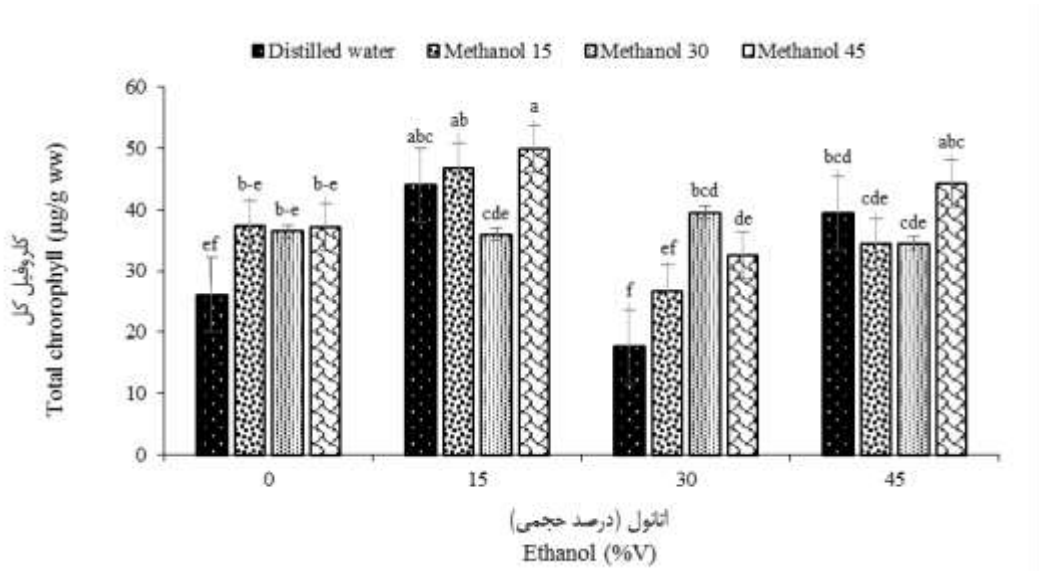


شکل ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل محلول‌پاشی اتانول و متانول بر میزان کلروفیل b در گیاه نعناع فلفلی

(میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک با هم اختلاف معنی‌داری ندارند)

Figure 3- Comparison of the mean of interaction of ethanol and methanol foliar application on chlorophyll b in peppermint (LSD, p≤0.05)

(In each column, the means with similar letters are not significantly different)



شکل ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل محلول‌پاشی اتانول و متانول بر میزان کلروفیل کل در گیاه نعناع فلفلی

(میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک با هم اختلاف معنی‌داری ندارند)

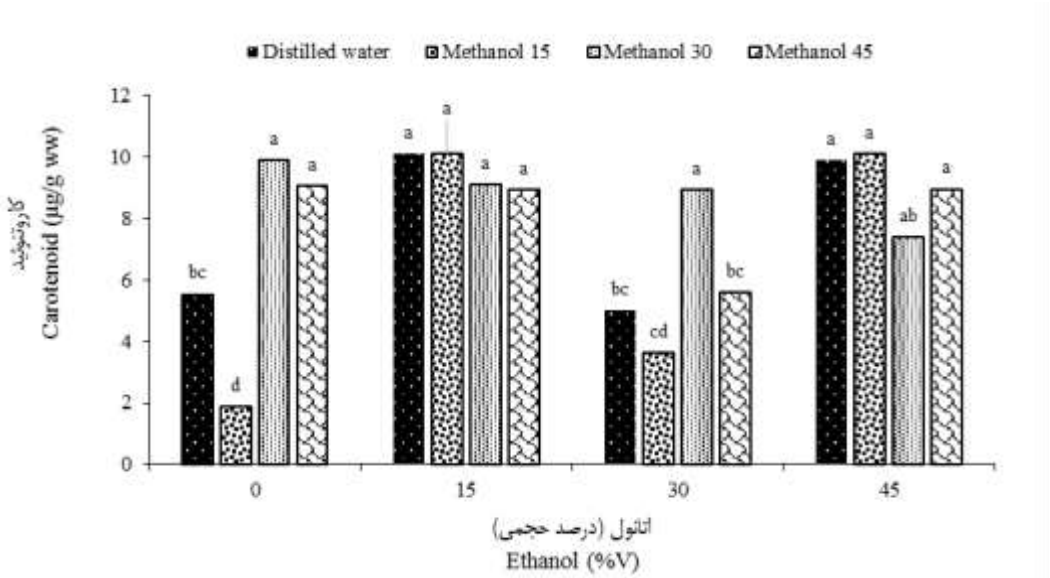
Figure 4- Comparison of the mean of interaction of ethanol and methanol foliar application on total chlorophyll in peppermint (LSD, p≤0.05)

(In each column, the means with similar letters are not significantly different)

تیمار برگ گیاه توتون (*Nicotiana tabacum*) با متانول سبب افزایش محتوای کلروفیل برگ شد (Ramirez *et al.*, 2006). همچنین بیشترین محتوای کلروفیل در برگ‌های گیاه مرزه (*Satureja hortensis*) نیز در اثر کاربرد اتانول ۴۰ درصد به‌دست

آمد (Nourafkan and Pouyanfar, 2017).

کاروتنوئید: نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که اثر ساده و متقابل اتانول و متانول بر کارتنوئید برگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. مقایسه میانگین اثر متقابل اتانول و متانول بر کارتنوئید برگ نشان داد که بیشترین کارتنوئید مربوط به کاربرد اتانول ۱۵ درصد در تمام سطوح تیماری متانول، کاربرد متانول ۳۰ و ۴۵ درصد به همراه آب مقطر و کاربرد اتانول ۴۵ درصد به همراه آب مقطر، ۱۵ و ۴۵ درصد متانول بود. کمترین میانگین این صفت نیز در تیمار آب مقطر و متانول ۱۵ درصد حجمی (۱/۸۶ میکروگرم بر گرم وزن تر برگ) مشاهده شد (شکل ۵).



شکل ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل محلول‌پاشی اتانول و متانول بر میزان کاروتنوئید در گیاه نعناع فلفلی

(میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک با هم اختلاف معنی‌داری ندارند)

Figure 5- Comparison of the mean of interaction of ethanol and methanol foliar application on carotenoid in peppermint (LSD, p≤0.05)

(In each column, the means with similar letters are not significantly different)

کاروتنوئیدها دسته‌ای از رنگدانه‌ها هستند که در جذب نور در گیاهان نقش مهمی دارند و می‌توانند اعمال فیزیولوژیکی متفاوتی را در گیاه انجام دهند. کاروتنوئیدها ترکیبات ضروری در تشکیلات فتوسنتزی می‌باشند و نقش اساسی آن‌ها حفاظت گیاه در برابر آسیب‌های فتواکسیداتیو می‌باشد. از دیگر وظایف کارتنوئیدها در گیاهان جذب نور در مرکز برداشت نور (LHC) فتوسیستم‌ها است (Bartley and Scolnik, 1995). برخی نتایج نشان داده است که کاربرد غلظت‌های بالای متانول روی غلظت کلروفیل اثر بازدارنده دارد و باعث کارایی فتوسیستم ۲ در کلروپلاست برگ‌های گیاه شود (Ramadan and Omran, 2005). این امر می‌تواند از دلایل اختلال در فعالیت دستگاه فتوسنتز و افزایش غلظت کارتنوئیدها باشد. یزدی‌فر و همکاران (Yazdifar *et al.*, 2015) گزارش کردند که محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف متانول (صفر، ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ درصد) منجر افزایش میزان کارتنوئید در گیاه همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.) گردید.

فلاونوئید: بر اساس نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) اثر ساده اتانول و متانول بر فلاونوئید در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. همچنین جدول مقایسه میانگین (جدول ۲) اثر اتانول و متانول بر فلاونوئید نشان داد که بیشترین میزان فلاونوئید مربوط به اتانول با غلظت ۱۵ درصد و متانول با غلظت ۴۵ درصد (۱۸/۴۲ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن تر برگ) و کمترین آن مربوط به تیمار آب مقطر (۱۲/۴۴ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن تر برگ) بود. محققان گزارش کردند که محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف متانول (صفر، ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ درصد) منجر افزایش میزان فلاونوئید در گیاه همیشه بهار گردید که با نتایج این پژوهش همخوانی داشت (Yazdifar *et al.*, 2015).

درصد و عملکرد اسانس: نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که اثر ساده اتانول بر درصد اسانس و عملکرد اسانس به ترتیب در سطح احتمال یک و پنج درصد معنی‌دار بود اما اثر ساده متانول بر درصد و عملکرد اسانس اثر معنی‌داری نداشت. بیشترین درصد اسانس مربوط به تیمار اتانول با غلظت ۴۵ درصد حجمی (۱/۷۶ درصد) و کمترین آن مربوط به اتانول با غلظت

۱۵ درصد حجمی (۱/۳۲ درصد) بود که البته از لحاظ آماری با تیمارهای آب مقطر و ۳۰ درصد حجمی اتانول اختلاف معنی‌داری نداشت. در این پژوهش متانول هیچ گونه اثر معنی‌داری بر درصد اسانس گیاه نعناع فلفلی نداشته است. همچنین بیشترین عملکرد اسانس مربوط به تیمار اتانول با غلظت ۴۵ درصد حجمی (۴۹/۴۷ میلی‌گرم در بوته) و کم‌ترین آن مربوط به تیمار آب مقطر (۳۹/۰۶ میلی‌گرم در بوته) بود (جدول ۲).

در پژوهشی که به منظور بررسی اثر محلول‌پاشی متانول بر کیفیت و عملکرد گیاه ترخون انجام شد، مشخص گردید که محلول‌پاشی این ترکیب بر مقدار اسانس اثر معنی‌داری داشت و بیشترین میانگین این صفات در کاربرد متانول ۴۰ درصد مشاهده شد (Moradi and Ebadati Esfahani, 2016). یزدی‌فر و همکاران (Yazdifar *et al.*, 2015) گزارش کردند که محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف متانول (صفر، ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ درصد) منجر افزایش میزان اسانس در گیاه همیشه بهار گردید. همچنین در تحقیقی دیگر بیان شد که استفاده از محلول‌پاشی اتانول و متانول سبب افزایش میزان اسانس، تیمول و کارواکرول در گیاه آویشن باغی شد (Sajedi *et al.*, 2012). به‌طورکلی مواد مؤثره اگر چه اساساً با هدایت فرآیندهای ژنتیکی ساخته می‌شوند، اما سنتز آن‌ها به طور بارزی تحت تأثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرند، به‌طوری‌که عوامل محیطی سبب تغییراتی در رشد و نمو گیاهان دارویی و نیز کمیت و کیفیت مواد مؤثره آن‌ها می‌گردد (Omidbaigi, 2005). یکی از این عوامل استفاده از ترکیبات کربنی نظیر الکل‌های اتانول و متانول است که به دلیل داشتن مولکول‌های کوچکتر از دی‌اکسیدکربن به راحتی از طریق انتشار ساده و بدون صرف انرژی از غشای سلول گیاهی عبور کرده و جذب سلول‌های گیاهی می‌شوند (Asgari and Moeinfard 2014).

درصد پروتئین: نتایج نشان داد که اثر ساده اتانول و متانول بر درصد پروتئین به ترتیب در سطح احتمال یک و پنج درصد معنی‌دار بود اما اثر متقابل این تیمار بر درصد پروتئین تأثیر معنی‌داری نداشت (جدول ۱). بیشترین درصد پروتئین مربوط به تیمار محلول‌پاشی اتانول با غلظت ۴۵ درصد حجمی (۱۰/۷۰ درصد) بود که از لحاظ آماری با تیمارهای اتانول ۳۰ درصد و متانول ۱۵ و ۳۰ درصد در یک سطح قرار داشت (جدول ۲).

متانول به صورت فرمالدهید و دی‌اکسیدکربن در گیاه اکسید شده و به صورت اسیدهای آمینه سرین و متیونین و کربوهیدرات‌ها در بافت‌های مختلف گیاهان سه کربنه سنتز می‌شود (Nonomura and Benson, 1992). افزایش سرعت رشد و ارتفاع محصول پس از محلول‌پاشی متانول به علت افزایش غلظت دی‌اکسیدکربن در برگ‌ها و استفاده از متانول به عنوان یک منبع مستقیم در سنتز اسیدآمینه سرین و کاهش هدررفت کربن از طریق تنفس نوری می‌باشد (Nadali *et al.*, 2010). همچنین پیله‌وری خمامی و همکاران (Pilehvari Khomami *et al.*, 2008) گزارش کردند که عملکرد غلاف، دانه و مقدار پروتئین دانه‌های بادام زمینی با محلول‌پاشی متانول ۲۰ درصد افزایش یافت که با مصرف بیشتر متانول، سرعت رشد گیاه نیز در اثر افزایش بازده فتوسنتزی زیاد شده و تخصیص مواد پرورده به غلاف‌های در حال رشد افزایش یافت. آنها دلیل این افزایش را فعالیت بیشتر باکتری متیلوتروف و افزایش تولید هورمون سیتوکینین دانستند زیرا این هورمون بر سنتز پروتئین در گیاهان تأثیر مثبت دارد.

نتیجه‌گیری

محلول‌پاشی برگی یکی از روش‌های تغذیه و تأمین عناصر غذایی در گیاهان است که به دلیل بالا بودن سرعت جذب می‌توان عناصر غذایی را در کوتاه‌ترین زمان در دسترس گیاهان قرار داد. نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که بیشترین ارتفاع بوته و بالاترین عملکرد بیولوژیک در تیمار ۱۵ درصد حجمی اتانول به‌دست آمد. همچنین محلول‌پاشی ۱۵ درصد حجمی اتانول به همراه ۱۵ درصد حجمی متانول بیشترین تأثیر مثبت را بر تعداد برگ در بوته و کلروفیل a داشته است. همچنین بالاترین میزان کاروفیل b، کلروفیل کل و فلاونوئید کل از تیمار تلفیقی ۱۵ درصد حجمی اتانول به همراه ۴۵ درصد حجمی متانول حاصل شد. کاربرد اتانول ۴۵ درصد نیز سبب تولید بیشترین درصد و عملکرد اسانس و بالاترین درصد پروتئین در گیاه دارویی نعناع فلفلی شد. بنابراین استفاده از تیمارهای الکلی اتانول و متانول به‌صورت محلول‌پاشی نقش مهمی در افزایش عملکرد و کیفیت گیاه دارویی نعناع فلفلی داشت.

منابع

1- Abbasian A., Mirshekari B., Safarzade Vishekaei M.N., Rashidi V., and Aminpanah H. 2016. Effects of the foliar application of methanol on the yield and growth of rice (*Oryza sativa* cv. Shiroudi). Ciencia e Investigacion Agrarian 43(1): 17-24. http://dx.doi.org/10.4067/S0718-16202016000100002.

2- Arnon A.N. 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. Agronomy Journal 23: 112-121.

3- Asgari A.A., and Moeinfard A. 2014. Effect of foliar spraying on plants as a new method in agriculture. 1st National Congress of Biology and Natural Sciences of Iran, Tehran, Iran. (In Persian)

4- Atmodjo M.A., Hao Z., and Mohnen D. 2013. Evolving views of pectin biosynthesis. Annual Review of Plant Biology 64: 747-779. https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042811-105534.
5- Bagheri A., Nezami A., Ganjali A., and Parsa, M. 1997. Peas Cultivation. University of Mashhad Publications. 444 pp. (In Persian)
6- Bartley E.G., and Scolnik P.A. 1995. Plant carotenoids: pigments for photoprotection, visual attraction and human health. The Plant Cell 7: 1027-1038. https://doi.org/10.1105/tpc.7.7.1027.
7- Bradford M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 72: 248-54. https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3.
8- Chen L., Chan S., and Cossins E.A. 1997. Distribution of folate derivatives and enzymes for synthesis of 10 formyltetrahydrofolate in cytosolic and mitochondrial fractionsof pea leaves. Plant Physiology 115: 299-309. doi: 10.1104/pp.115.1.299.
9- Dai J., Orsat V., Raghavan G.S., and Yaylayan V. 2010. Investigation of various factors for the extraction of peppermint (*Mentha piperita* L.) leaves. Journal of Food Engineering 96: 540-3. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.08.037.
10- Deleris A., Halter T., and Navarro L. 2016. DNA methylation and demethylation in plant immunity. Annual Review Phytopathology 54: 579-603. DOI: 10.1146/annurev-phyto-080615-100308.
11- Dorokhov Y.L., Sheshukova E.V., and Komarova T.V. 2018. Methanol in plant life. Frontiers in Plant Science 9, 1623. doi: 10.3389/fpls.2018.01623.
12- Dorokhov Y.L., Shindyapina A.V., Sheshukova E.V., and Komarova T.V. 2015. Metabolic methanol: molecular pathways and physiological roles. Physiological Reviews 95: 603-644. DOI: 10.1152/physrev.00034.2014.
13- Ebrahimzadeh M.A., Hosseinimehr S.J., Hamidinia A., and Jafari M. 2010. Antioxidant and free radical scavenging activity of Feijoa sallowiana fruits peel and leaves. Pharmacology Online 1: 7-14.
14- Gout E., Aubert S., Bligny R., Rebeille F., Nonomura A.R., Benson A.A., and Douce R. 2000. Metabolism of methanol in plant cells. Carbon-13 nuclear magnetic resonance studies. Plant Physiology 123: 287-296. doi: 10.1104/pp.123.1.287.
15- Hanson A.D., and Roje S. 2001. One carbon metabolism in higher plants. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 52: 119-138. DOI: 10.1146/annurev.arplant.52.1.119.
16- Ivanova E.G., Doronina N.V., and Trotsenko Y.A. 2001. Aerobic methylobacteria are capable of synthesizing auxins. Microbiology 70: 392-397. DOI: 10.1023/A:1010469708107.
17- Jafari Marandi S., and Majd A. 2008. The effect of alcoholic treatments (ethanol and methanol) on the development of vegetative meristem, formation of flower components, change in the number of flowering shoots, development of embryos and possibility of delaying aging in clove flowers. Quarterly Journal of Developmental Biology 1: 9-14. (In Persian with English abstract)
18- Khosravi E., Mehrafarin A., Naghdibadi H., Haji Aghaee R., and Khosravi M.T. 2012. The phytochemical response of *Melissa officinalis* L. to foliar application of hydro-alcoholic solutions (methanol and ethanol). Journal of Herbal Drugs 3(1): 21-25. (In Persian with English abstract)
19- Kim S.J., and Brandizzi F. 2016. The plant secretory pathway for the trafficking of cell wall polysaccharides and glycoproteins. Glycobiology, 26: 940-949. DOI: 10.1093/glycob/cww044.
20- Komarova T.V., Pozdyshev D.V., Petrunia I.V., Sheshukova E.V., and Dorokhov Y.L. 2014. Pectin methylesterase-generated methanol may be involved in tobacco leaf growth. Biochemistry (Moscow) 79: 102-110. DOI: 10.1134/S0006297914020035.
21- Kumar A., Samarth R.M., and Yasmeen S. 2004. Anticancer and radioprotective potentials of *Mentha piperita* L. BioFactors 22: 87-91. DOI: 10.1002/biof.5520220117.
22- Makhdum I.M., Nawaz A., Shabab M., Ahmad F., and Illahi F. 2002. Physiological response of cotton to methanol foliar application. Journal of Research, (Science) Bahauddin Zakariya University, Multan, Pakistan 13: 37-43.
23- Mehrafarin A., Naghdi Badi H., Poorhadi M., Hadavi E., Ghavami N., and Kadkhoda Z. 2011. Phytochemical and agronomic response of peppermint (*Mentha piperita* L.) to urea and biofertilizers application. Journal of Medicinal Plants 10(4): 107-118. (In Persian with English abstract)
24- Mehrafarin A., Naghdi Badi H., Qaderi A., Labbafi M.R., Zand E., Noormohammadi Gh., Qavami N., and Seif Sahandi M. 2015. Changes in seed yield and mucilage of Fenugreek (*Trigonella foenum*-graecum L.) in response to foliar application of methanol as a bio-stimulant. Journal of Medicinal Plants 2(54): 86-100. (In Persian with English abstract)
25- Moradi P., and Ebadati Esfahani R. 2016. Effect of foliar application methanol on the quality and quantity of *Artemisia dracunculus* L. Electronic Journal of Biology S1: 24-29.
26- Nadali I., Paknejad F., Moradi F., and Vazan S. 2010. Effect of methanol on yield and some quality characteristics of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) cv. Rasoul in drought and non-drought stress conditions. Seed and Plant Production 26: 95-108. (In Persian with English abstract)
27- Nazari Moghadam R. 2014. Effect of foliar application of methanol and ethanol on essential oil content and

vegetative growth of *Anethum graveolens*. MSc Thesis, Islamic Azad University of Miyaneh Branch, East Azerbaijan, Iran. (In Persian with English abstract)
28- Nonomura A.M., and Benson A.A. 1992. The path of carbon in photosynthesis: Improved crop yield with methanol. Proceedings of the National Academy of Sciences 89: 9794-9798. doi: 10.1073/pnas.89.20.9794.
29- Nourafkan H., and Kalantari Z. 2017. The effect of methanol and ethanol foliar application on peppermint morpho-physiological characteristics. Agroecology Journal 12(4): 1-9. (In Persian with English abstract)
30- Nourafkan H., and Pouyanfar M. 2017. Savory Morpho-physiological traits affected by methanol and ethanol foliar application. Agroecology Journal 3(1): 9-17. (In Persian with English abstract)
31- Omidbaigi R. 2005. Production and Processing of Medicinal Plants. Volume II, Astane Ghodse Razavi Publications. 438 Pp. (In Persian)
32- Pilehvari Khomami R., Safarzadeh Vishkaei M.N., Sajedi N.A., Rasooli M., and Moradi M. 2008. The effect of methanol and zinc on quantitative and qualitative parameters of peanuts in Guilan. New Finding in Agriculture 2(4): 339-351. (In Persian with English abstract)
33- Rajala A., Karkkainen J., Peltonen J., and Peltonen-Sainio P. 1998. Folia applications of alcohols failed to enhance growth and yield of C3 crops. Industrial Crops and Products 7: 129-137. DOI : 10.1016/S0926-6690(97)00041-1.
34- Ramadan T., and Omran Y.A.M. 2005. The effect of foliar application of methanol on productivity and fruit quality of grapevine cv. Flame Seedless. Vitis 44(1): 11-16. DOI: https://doi.org/10.5073/vitis.2005.44.11-16.
35- Ramirez I., Dorta F., Espinoza V., Jimenez E., Mercado A., and Pena-Cortes H. 2006. Effects of foliar and root applications of methanol on the growth of Arabidopsis, tobacco, and tomato plants. Journal of Plant Growth Regulation 25: 30-44. DOI: 10.1007/s00344-005-0027-9.
36- Safarzadeh Vishkaee M.N. 2007. The effect of methanol on peanut growth and yield. PhD Thesis, Islamic Azad University of Science and Research of Tehran, 236 pp. (In Persian with English abstract)
37- Saffer A.M. 2018. Expanding roles for pectins in plant development. Journal of Integrative Plant Biology 60: 910-923. DOI: 10.1111/jipb.12662.
38- Sajedi Moghadam S., Mehrafarin A., Naghdi Badi H., Pazoki A.R., and Qavami N. 2012. Evaluation of phytochemical yield of Thyme (*Thymus vulgaris* L.) under foliar application of hydroalcohols. Journal of Medicinal Plants 11(4): 130-140. (In Persian with English abstract)
39- Shah P.P., and Mello P.M.D. 2004. A review of medicinal uses and pharmacological effects of *Mentha piperita*. Natural Product Radiance 3: 4.214-221.
40- Tarhan S., Telci I., Tuncay M.T. and Polatci H. 2010. Product quality and energy consumption when drying peppermint by rotary drum dryer. Industrial Crops and Products 32: 420-427. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2010.06.003.
41- Theodoridou A., Dornemann D., and Kotzabasis K. 2002. Light dependent induction of strongly increased microalgal growth by methanol. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects 2: 189-198. DOI: 10.1016/s0304-4165(02)00438-5.
42- Yazdifar S.H., Moradi P., and Yousefi Rad M. 2015. Effect of foliar application of methanol and chelated zinc on the quantities and qualities yield of marigold (*Calendula officinalis* L). Journal of Applied Environmental and Biological Sciences 4: 170-176.

Journal of Horticultural Science
https:// jhs.um.ac.ir

Research Article
Vol. 36, No. 1, Spring 2022, p. 43-56

The Effect of Vitamin C and B Treatments on Button Mushroom Yield and Postharvest Life

S. Khosravi[1], M. Haghighi[2*], M. Mehnatkesh[3]

Received: 10-11-2020
Revised: 07-09-2021
Accepted: 04-12-2021
Available Online: 20-06-2022

How to cite this article:
Khosravi S., Haghighi M., and Mehnatkesh M. 2022. The Effect of Vitamin C and B Treatments on Button Mushroom Yield and Postharvest Life. Journal of Horticultural Science 36(1): 43-56. (In Persian with English abstract)
DOI: 10.22067/JHS.2021.61967.0

Introduction

Agaricus bisporus is the important mushroom that is cultivated industrially and due to its medicinal properties, it has special nutritional importance in the food basket of the people of the world. It is predicted that with increasing population and changing consumption patterns, food will be one of the most critical issues in the country soon and protein poverty will be one of the most critical leading crises. Mushroom can be the best choice for the supply of essential human protein because they produce protein-rich foods using agricultural waste. Mushrooms are also rich sources of essential amino acids, vitamins (B_2, niacin and folate), and minerals. White button mushroom production accounts for about 35% of the total world production of edible mushroom. The production of edible mushroom (*Agaricus bisporus*) depends on planting, amount of spawn consumed, growing conditions, species and media of cultivated edible mushroom.

Material and methods

The present study aims to investigate the effect of vitamins B and C on growth, yield of button mushroom and its postharvest life. The study was performed in two separate experiments in the mushroom factory and storage. The experiment was performed in the mushroom factory located in Khomeini Shahr city of Isfahan province and experiments related to the laboratory section and the research laboratories of the Faculty of Agriculture, Isfahan University of Technology. In this study, a box culture system was used to grow mushrooms. For this purpose, in order to prepare the culture media and prevent the mixing of culture media containing different treatments, cardboard plastic was used to make the boxes. First, in order to eliminate the pathogens, tiram fungicide is used for 24 hours. Cartonoplasts were then placed at specific distances of 30 cm by 30 cm. To eliminate pathogens, the composts were steamed in an autoclave at 121 ° C at a pressure of 1.34 atmospheres for 15 minutes and boarded and treatments were applied. Treatments include 3 levels of vitamin C (0, 3 and 6 mg / kg) (C0, C1 and 2C), 3 levels of vitamin B (0, 0.5 and 1 mg / kg) (B0, B1 and B2) was performed by factorial experiment in a randomized complete block design with 4 replications (40). Vitamin B complex, including vitamins B1, B2, B6, B12 and B9 were prepared in a ratio of 1: 2: 2: 5: 4. The treatments were applied to the composts used in the bed after boarding and before applying topsoil. When the mushrooms reached the commercial harvest level, i.e., the cap was 2.5 to 8 cm, but the cap was not opened, the factors related to vegetative growth were measured as follows. The number of mushrooms during the harvest period was counted for all treatments and at the end of the period, the average number of mushrooms per unit area was calculated. Cap diameter and base of each fungus were measured with a caliper during the harvest period for all mushrooms. In order to estimate yield, the mushroom harvested daily were weighed from all replications of each treatment.

Result

The results showed that the nutritional supplements used in this study were effective in increasing vegetative

1, 2 and 3- Former M.Sc Student, Associate Professor and M.Sc Student, Department of Horticulture, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: mhaghighi@cc.iut.ac.ir)

growth and yield and the highest number of mushrooms and dry weight were related to vitamin treatment. The interaction effect of vitamin C and vitamin B on the quantitative and qualitative characteristics of edible mushrooms at harvest time showed that dry weight increased at C1 and C2 with increasing concentration of B2 and decreased at C0. Cap diameter increased at all concentrations of vitamin C with increasing concentration of B2 and C2 had the highest amount. Base diameter was highest in C1 with increasing all concentrations of B vitamins compared to other treatments and lowest in C2 with concentration of B0. Ion leakage in C2 increased with increasing concentration of B2 and decreased in C0 and C1. The number of mushroom in C1 and C2 decreased with the addition of vitamin B and the highest number in C2 increased with the concentration of B0. The weight of grade 2 at C0 and C1 decreased with increasing concentrations of B2 and B1, respectively. Total yield was increased at all concentrations of vitamin C using B1. The highest total yield was observed in C1 treatment with B2 application. Total performance in control and C2 treatment decreased with increasing B2. Harvest time hardness increased in all three vitamin C treatments by increasing the concentration of B1, but increasing the concentration of B2 compared to B1 decreased. The highest increase was observed in the control treatment of vitamin C and the highest decrease was observed in the treatment of C2. Harvest time whiteness increased in C0 and C2 with the addition of vitamin B and decreased in C1. In general, in the control treatment of vitamin C in the two concentrations of B1 and B2, the highest amount of whitening time was observed. The highest amount of ash was observed in C2 with B2 application. In the postharvest experiment, the highest hardness after 32 days of storage was related to vitamin B treatment and the highest postharvest hardness, postharvest whiteness, and whiteness after 32 days of storage were related to vitamin C treatment. Also, the results of comparing the mean of interactions showed that the total yield in all three vitamin B treatments increased with the application of 3 mg/kg. The results of the second experiment showed that the rate of water loss in C1 with the addition of B2 concentration was the highest and in the control treatment was the lowest. The hardness increased after 32 days of storage in the control treatment and C2 with the application of B1, but decreased in C1 and C2 with the use of B2. The highest amount of whiteness was observed in C1 after 32 days of storage by increasing the concentration of C1, which was not statistically significant with the control treatment. It seems that there is not much difference between different concentrations of vitamin C in vegetative and postharvest fungal traits, but better results have been obtained by increasing the concentration of vitamin B. The results indicate that the effect of supplements on the yield of edible mushrooms is different so that adding appropriate amounts of supplements to the culture medium significantly increases crop yield. The results of this study showed that vitamin C1 treatment resulted in the highest dry and total weight, cap diameter, base diameter, and number of mushrooms. Wetter and drier cap and base diameters, ion leakage and water loss, were the highest in vitamin B2 treatment.

Keywords: Mushroom, Storage, Supplements, Vitamins

نشریه علوم باغبانی
https:// jhs.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۶، شماره ۱، بهار ۱۴۰۱، ص ۵۶-۴۳

تأثیر تیمارهای ویتامین C و B بر عملکرد قارچ تکمه‌ای و عمر پس از برداشت آن

سعید خسروی[۱]- مریم حقیقی[۲*]- منیره محنت‌کش[۳]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۸/۲۰
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۹/۱۳

چکیده

قارچ خوراکی (*Agaricus bisporus*) مهم‌ترین قارچی است که به‌صورت صنعتی کشت می‌شود و ویتامین‌ها، هورمون‌ها و آمینواسیدها موجب بهبود رشد رویشی قارچ و بالا رفتن عملکرد در فلش‌های مختلف برداشت می‌گردد. پژوهش حاضر به‌منظور بررسی اثر ویتامین B و C، بر رشد و عملکرد قارچ تکمه‌ای و عمر پس از برداشت آن در ۲ آزمایش مجزا در کارخانه قارچ و انبار پس از برداشت انجام شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی در ۳ تکرار شامل تیمارهای ویتامین C (صفر، ۳ و ۶ میلی‌گرم برکیلوگرم) و ۳ سطح ویتامین B (صفر، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم) اعمال گردید. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر اصلی ویتامین C، ویتامین B و اثرمتقابل آن‌ها بر قطر کلاهک و پایه، میزان از دست‌دهی آب، وزن خشک، سختی پس از برداشت، یون نشتی، تعداد قارچ، آخرین سختی پس از برداشت، عملکرد، وزن درجه دو معنی‌دار بود. مکمل-های غذایی استفاده‌شده در این پژوهش بر افزایش رشد رویشی و عملکرد مؤثر بودند. نتایج به‌دست‌آمده از این مطالعه نشان داد تیمار ۳ میلی‌گرم در کیلوگرم ویتامین C بیشترین میزان وزن خشک و کل، قطر کلاهک، قطر پایه، تعداد قارچ را موجب شد. وزن‌تر و خشک قطر کلاهک و پایه، نشت یونی و میزان از دست دهی آب در تیمار ۱ میلی‌گرم در کیلوگرم ویتامین B بیشترین میزان را داشت. به نظر می‌رسد در صفات رویشی و پس از برداشت قارچ تفاوت زیادی بین غلظت‌های مختلف ویتامین ث وجود ندارد اما با افزایش غلظت ویتامین B نتایج بهتری حاصل‌شده است.

واژه‌های کلیدی: انبارمانی، قارچ، مکمل‌های غذایی، ویتامین‌ها

مقدمه

قارچ خوراکی (*Agaricus bisporus*) مهم‌ترین قارچی است که به‌صورت صنعتی کشت می‌گردد و به دلیل خواص دارویی از اهمیت تغذیه‌ای ویژه‌ای در سبد غذایی مردم جهان برخوردار است (Singh and Si Singh, 2007). پیش‌بینی می‌شود با افزایش روزافزون جمعیت و تغییر الگوی مصرف، مسئله غذا در آینده نزدیک یکی از مهم‌ترین مسائل کشور و فقر پروتئین از مهم‌ترین بحران‌های پیشرو باشد. قارچ‌ها می‌توانند بهترین انتخاب برای تأمین پروتئین ضروری انسان باشند؛ زیرا با استفاده از ضایعات کشاورزی، مواد غذایی غنی از پروتئین تولید می‌کنند (Royse and Chalupa, 2009). همچنین قارچ‌ها منبعی غنی از چندین اسیدآمینه ضروری، ویتامین‌ها (B_2، نیاسین و فولات ها) و مواد معدنی هستند (Shaviv, 2001). تولید قارچ تکمه‌ای سفید (*Agaricus bisporus*) حدود ۳۵ درصد از کل تولید جهانی قارچ‌های خوراکی را به خود اختصاص می‌دهد (Tavana and Dear, 2011). یکی از مهم‌ترین عوامل در پرورش و تولید قارچ خوراکی، بهبود عملکرد محصول و رشد قارچ است که به فاکتورهای مختلفی مانند کیفیت بستر کاشت، مقدار اسپان مصرفی، شرایط رشد، گونه و نژاد قارچ خوراکی کشت‌شده، نحوه آماده‌سازی بستر کشت و استفاده از مکمل‌های غذایی مانند ویتامین‌ها، هورمون‌ها و آمینواسیدها وابسته است (Steams and Shelton, 2011). حال‌آنکه اگر این ویتامین‌ها، هورمون‌ها و آمینواسید به‌صورت تدریجی در اختیار میسیلیوم قارچ قرار گیرد و موجب افزایش رشد رویشی و بالا رفتن عملکرد می‌گردد. از سوی دیگر، اعمال تدریجی این مواد سبب کنترل میزان عناصر غذایی، تثبیت و تأمین عناصر غذایی به فرم‌های مختلف و مناسب و

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، دانشیار و دانشجوی کارشناسی ارشد گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: mhaghighi@cc.iut.ac.ir)
DOI: 10.22067/JHS.2021.61967.0

همچنین اثرهای هم‌افزایی عناصر و افزایش دسترسی به عناصر می‌شود (Simon *et al.*, 2010). عمر انباری قارچ تازه در دمای معمولی تنها ۳-۱ روز و در ۴ درجه سانتی‌گراد ۷ - ۴ روز است (Singh and Si Singh, 2007). قارچ در مقایسه با بیشتر محصولات باغبانی سرعت تنفس بالاتری دارد و به دلیل فقدان پوشش محافظ طبیعی برای جلوگیری از هدر رفتن آب، کیفیت خوراکی آن به‌سرعت از دست می‌رود. لذا نقصان سریع پس از برداشت، در توزیع و عرضه‌ی قارچ، محدودیت ایجاد کرده است (Singh, 2010). نرم شدن قارچ‌های دکمه‌ای نیز ممکن است توسط آنزیم‌های باکتریایی رخ دهدکه دیواره سلولی را در طول ذخیره‌سازی تخریب می‌کند (Royse and Chalupa, 2009). وجود ساختار اپیدرمی نازک و متخلخل و عدم وجود کوتیکول و نرخ زیاد تنفس در قارچ‌ها و همچنین فعالیت زیاد آنزیم تیروزیناز و وجود مقدار زیاد ترکیبات فنولی، قارچ‌ها را مستعد قهوه‌ای شدن آنزیمی می‌کند (Atri and Guleria, 2013; Zhang *et al.*, 2019). قهوه‌ای شدن روی کیفیت قارچ تأثیر می‌گذارد و منجر به خسارت‌های اقتصادی فراوانی در صنعت می‌شود (Singh, 2010). تیمارهای پس از برداشت می‌تواند رشد میکروبی و تشکیل ضایعه قهوه‌ای قارچ را به میزان قابل‌توجهی مهار کند (Simon *et al.*, 2010). تاکنون مطالعات گسترده‌ای برای افزایش عمر پس از برداشت قارچ‌ها توسط بسیاری از محققان انجام‌شده است ازجمله: تیمارهای شیمیایی (تیروزیناز) و مهارکننده‌ها، سدیم متابی سولفیت، سیتریک اسید، هیدروژن پراکسید، گلایسین بتائین، تیمارهای بسته‌بندی فیزیکی پوشش‌ها و اتمسفر اصلاح‌شده، کم‌آبی، تکنیک‌های تابش، کلسیم‌کلرید و اسیدسیتریک، تیمار UV-C، فیلم مخلوط کیتوزان/زین، آب الکترولیز، آب پلاسما فعال‌شده، تیمار کوتاه‌مدت CO_2 و تأثیر L-Arginine در حفظ کیفیت ذخیره‌سازی قارچ تکمه‌ای سفید (Hosseini and Khan *et al.*, 2017; Lei *et al.*, 2018; Moradinezhad, 2018; Li *et al.*, 2019). بااین‌وجود در خصوص تأثیر تیمارهای ویتامین گروه ب و ث بر روی رشد، عملکرد و ماندگاری پس از برداشت قارچ خوراکی گزارشی وجود ندارد؛ همچنین پژوهش حاضر جهت بررسی میزان تأثیرپذیری کیفیت پس از برداشت قارچ خوراکی از تیمارهای ویتامین B و C اجرا شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به‌منظور مطالعه تأثیر ویتامین‌های B و C بر رشد و عملکرد قارچ تکمه‌ای در سال ۱۳۹۷-۱۳۹۶ به‌صورت یک آزمایش مجزا در کارخانه قارچ کوهستان واقع در شهرستان خمینی‌شهر استان اصفهان به اجرا درآمد و آزمایش‌های مربوط به بخش آزمایشگاهی و انبار پس از برداشت در آزمایشگاه‌های تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان انجام شد.

در این پژوهش از سیستم کشت جعبه‌ای برای کشت قارچ استفاده شد. به همین منظور جهت آماده‌سازی بسترهای کشت و جلوگیری از اختلاط بسترهای کشت حاوی تیمارهای مختلف از کارتن‌پلاست برای ساخت جعبه‌ها استفاده شد. ابتدا به‌منظور از بین بردن عوامل بیماری‌زا، کارتن‌پلاست‌ها به مدت ۲۴ ساعت داخل قارچ‌کش تیرام قرار گرفتند. سپس کارتن‌پلاست بافاصله ۳۰ سانتی‌متر در ۳۰ سانتی‌متری در محل‌های مشخص قرار گرفتند. کمپوست‌ها جهت از بین بردن عوامل بیماری‌زا، درون اتوکلاو دمای ۱۲۱ درجه‌سانتی‌گراد، فشار ۱/۳۴ اتمسفر به مدت ۱۵ دقیقه بخار داده شدند و تخته‌کوبی شد و تیمارها اعمال گردید. تیمارها شامل ۳ سطح ویتامین C (صفر، ۳ و ۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به صورت (C0، C1 و C2)، ۳ سطح ویتامین B (صفر، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم بر گرم) به صورت (B0، B1 و B2) بصورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با ۴ تکرار انجام شد (Shivhare *et al.*, 2004). ویتامین B کمپلکس شامل ویتامین B1، B2، B6، B12 و B9 با نسبت ۱: ۲: ۲: ۵: ۴ از شرکت (Nekton Prpdokte CO) تهیه شد، تیمارها در آب مقطر حل شده و در دو مرحله، پس از تخته‌کوبی و قبل از اعمال خاک‌پوششی به کمپوست‌های بکار رفته در بستر اعمال شد.

آزمایش اول: اندازه‌گیری خصوصیات کمی و کیفی قارچ خوراکی در زمان برداشت

برای تهیه محلول ویتامین C از شرکت (Kimiya Darou Mehr Co) استفاده شد. هنگامی‌که قارچ به حد برداشت تجاری رسید یعنی کلاهک ۲/۵ تا ۸ سانتی‌متر شد، اما کلاهک باز نشده بود، فاکتورهای مربوط به رشد رویشی به‌صورت زیر اندازه‌گیری شد (شکل ۱). تعداد قارچ‌ها در طول دوره برداشت برای تمامی تیمارها شمارش گردید و در پایان دوره برای هر تیمار میانگین تعداد قارچ به ازای واحد سطح محاسبه شد. قطر کلاهک و پایه هر قارچ در طول دوره برداشت برای تمامی قارچ‌ها با کولیس (Insize1108-250) اندازه‌گیری شد. به‌منظور اندازه‌گیری عملکرد، روزانه قارچ‌های برداشت‌شده از کلیه تکرارهای هر تیمار توزین شد.

روزانه قارچ‌ها برداشت‌شده دسته‌بندی و قارچ‌های درجه ۲ (پرده زیر کلاهک جداشده باشد) از میان قارچ‌ها جدا و توزین شد. به‌منظور اندازه‌گیری وزن‌تر، بعد از اتمام دوره کشت قارچ‌ها وزن‌تر آن‌ها با استفاده از ترازوی دیجیتال تعیین شد. سپس جهت اندازه‌گیری وزن خشک، قارچ‌ها درون آون به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفت. پس از این مرحله وزن خشک به‌وسیله ترازوی دیجیتال برحسب گرم توزین شد. اندازه‌گیری میزان نشت یونی بر طبق روش لوتس و همکاران (۱۹۹۵) اندازه‌گیری شد (Lutts *et al.*, 1995). به این منظور از قارچ‌های

ورقه شده ۳ دیسک به قطر یک سانتی‌متر در هر تکرار تهیه گردید. سپس نمونه‌ها درون لوله‌آزمایش ۱۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق بر روی شیکر قرار داده شد پس‌از این مدت محتویات لوله‌ها ورتکس و میزان هدایت الکتریکی محلول (EC_1) توسط دستگاه سنجش هدایت الکتریکی اندازه‌گیری گردید. درصد نشت یونی از رابطه زیر به‌دست‌آمد:

$$EC = (EC1/EC2) \times 100$$

مقداری از نمونه‌های خشک‌شده را با ترازوی دیجیتال توزین در کوره ۴۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار می‌دهیم و بعد از گذشت ۲۴ ساعت وزن کردن خاکستر انجام شد و با کمک رابطه زیر درصد خاکستر محاسبه شد.

$$ASH = (AW/DW) \times 100$$

AW: وزن خاکستر، DW: وزن خاکستر

آزمایش دوم: اندازه‌گیری خصوصیات کمی و کیفی قارچ خوراکی پس از برداشت

پس از برداشت کردن قارچ‌ها و انجام اندازه‌گیری‌های آزمایش اول، قارچ‌ها در داخل ظرف یک‌بارمصرف قرار گرفت و با پوشش سلفون بسته‌بندی گردید و به‌صورت یک ردیف داخل سبدهای بزرگ بدون هیچ فشاری قرار گرفتند که این کار برای هر فلش رشدی جداگانه انجام و به سردخانه دانشگاه منتقل شد تا اندازه‌گیری فاکتورهای مربوط به پس از برداشت مثل میزان سختی، میزان از دست‌دهی آب، میزان سفیدی روی قارچ‌ها انجام گیرد و پس از هر اندازه‌گیری مجدداً قارچ‌ها در داخل ظرف یک‌بارمصرف قرار گرفت و با پوشش سلفون بسته‌بندی‌شده و به‌صورت یک ردیف داخل سبدهای بزرگ بدون هیچ فشاری برای اندازه‌گیری‌های بعدی قرار گرفت. اندازه‌گیری‌های پس از برداشت هر ۴ روز یک‌بار مجموعاً ۸ مرتبه به مدت ۳۲ روز انجام شد. به‌منظور اندازه‌گیری سختی قارچ، از دستگاه پلانچر مدل (model: Insize ISH-SDM) استفاده شد. بدین منظور یک‌بار اندازه‌گیری بلافاصله پس از برداشت و هر ۴ روز تا ۳۲ روز مجدداً از همان تکرار اندازه‌گیری انجام شد سپس از رابطه زیر میزان سختی بافت قارچ نسبت به نیوتون محاسبه شد.

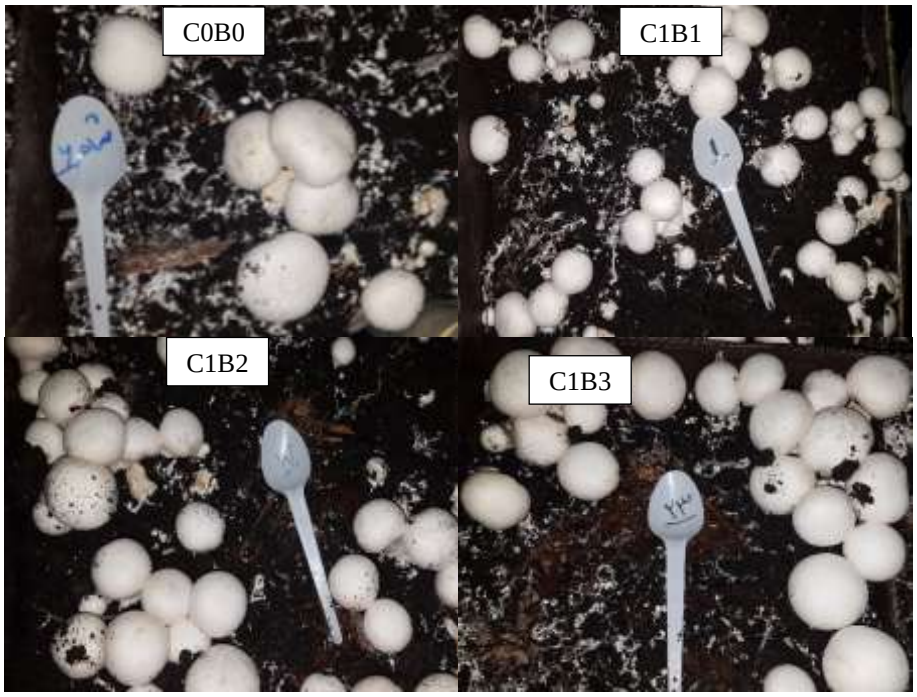
$$T = FP \times G$$

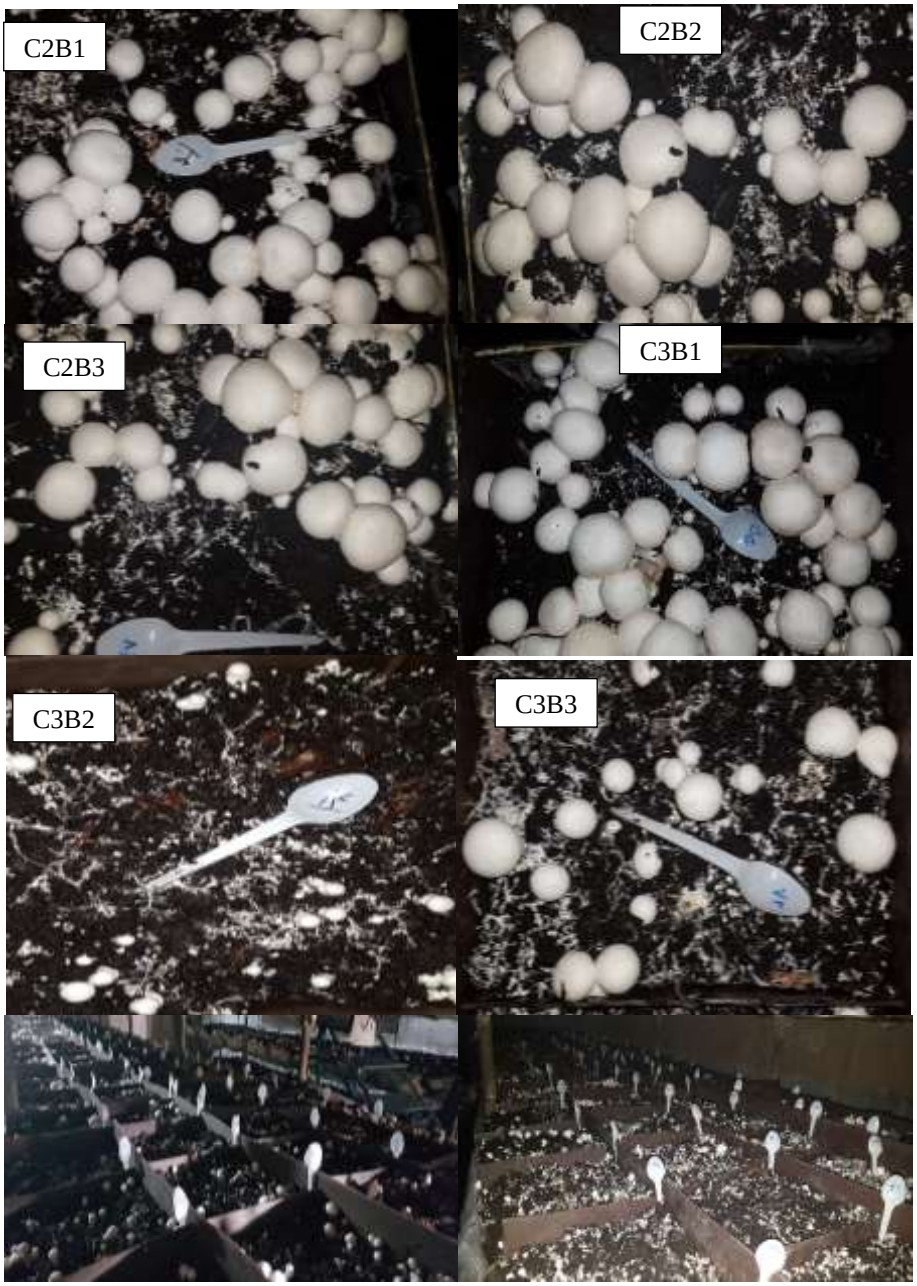
FP: قرائت پلانچر، G:۹/۸

قارچ‌ها را بلافاصله پس از برداشت وزن کرده و هر ۴ روز تا ۳۲ روز مجدداً از همان تکرار وزن می‌کنیم سپس از رابطه زیر میزان از دست‌دهی آب برحسب درصد محاسبه شد:

$$WD = ((W1 - W2)/W1) \times 100$$

W1: اولین وزن، W2: وزن پس از ۳۲ روز





شکل ۱- تصاویر قارچ‌های تیمار شده با C0، C1، C2 به ترتیب غلظت صفر، ۳ و ۶ میلی‌گرم ویتامین C در هر کیلوگرم کمپوست؛ B0، B1، B2 به ترتیب غلظت‌های صفر، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم ویتامین B در هر کیلوگرم کمپوست

Figure 1- Images of C0, C1, C2 fungi treated with concentrations of 0, 3, and 6 mg of vitamin C per kg of compost, respectively; and B0, B1, B2 fungi treated with concentrations of 0, 0.5 and 1 mg of vitamin B per kg of compost, respectively

از یک قارچ در هر تیمار بلافاصله پس از برداشت تصویربرداری با دوربین دیجیتال در شرایط یکسان برای همه تیمارها و هر ۴ روز تا ۳۲ روز مجدداً از همان قارچ تصویربرداری شد و به کمک برنامه MATLAB (Ver 8.1-2013) میزان سفیدی پس از برداشت به دست آمد به‌طوری‌که از صفر (سیاهی مطلق) تا ۲۵۵ (سفیدی مطلق) برای هر تکرار اندازه‌گیری انجام شد.

تجزیه داده‌ها

تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد با استفاده از نرم‌افزار statistix8 استفاده شد.

نتایج

نتایج جدول تجزیه واریانس اثر اصلی ویتامین C، ویتامین B و اثرمتقابل آنها بر قطر کلاهک و پایه، میزان از دست‌دهی آب، وزن خشک، سختی پس از برداشت، یون نشتی، تعداد قارچ، آخرین سختی پس از برداشت، عملکرد، وزن درجه دو معنی‌دار بود (جدول ۱). همچنین نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر اصلی ویتامین C، ویتامین B بر وزن تر معنی‌دار بود اما اثرمتقابل آنها تاثیر معنی‌داری بر وزن تر نداشت (جدول ۱).

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر کاربرد ویتامین C و ویتامینB بر خصوصیات قارچ تکمه‌ای

Table 1- ANOVA for the effect of vitamin C and vitamin B application on mushrooms characteristics

منابع تغییرات Sources of changes	درجه آزادی Degrees of freedom	سختی پس از برداشت Post-harvest hardness	وزن خشک Dry weight	قطر پایه Base diameter	میزان ازدست دهی آب Water loss	قطر کلاهک Cap diameter
Vitamin C	2	35.04**	0.30**	24.76**	17.52**	22.62**
Vitamin B	2	29.42**	1.13**	9.78**	29.26**	133**
Vitamin B×C	4	35.30**	0.69**	11.14**	109.75**	30.32**
خطا Error	243	3.54	0.01	0.02	2.57	0.09
ضریب تغییرات C.V (%)		2.71	6.4	0.62	10.45	0.77

**: معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

** : significant at 1% of probability level

ادامه جدول ۱– تجزیه واریانس اثر کاربرد ویتامین Cو ویتامینB بر خصوصیات قارچ

Table 1 Continued- ANOVA for the effect of vitamin C and vitamin B application on mushrooms characteristics

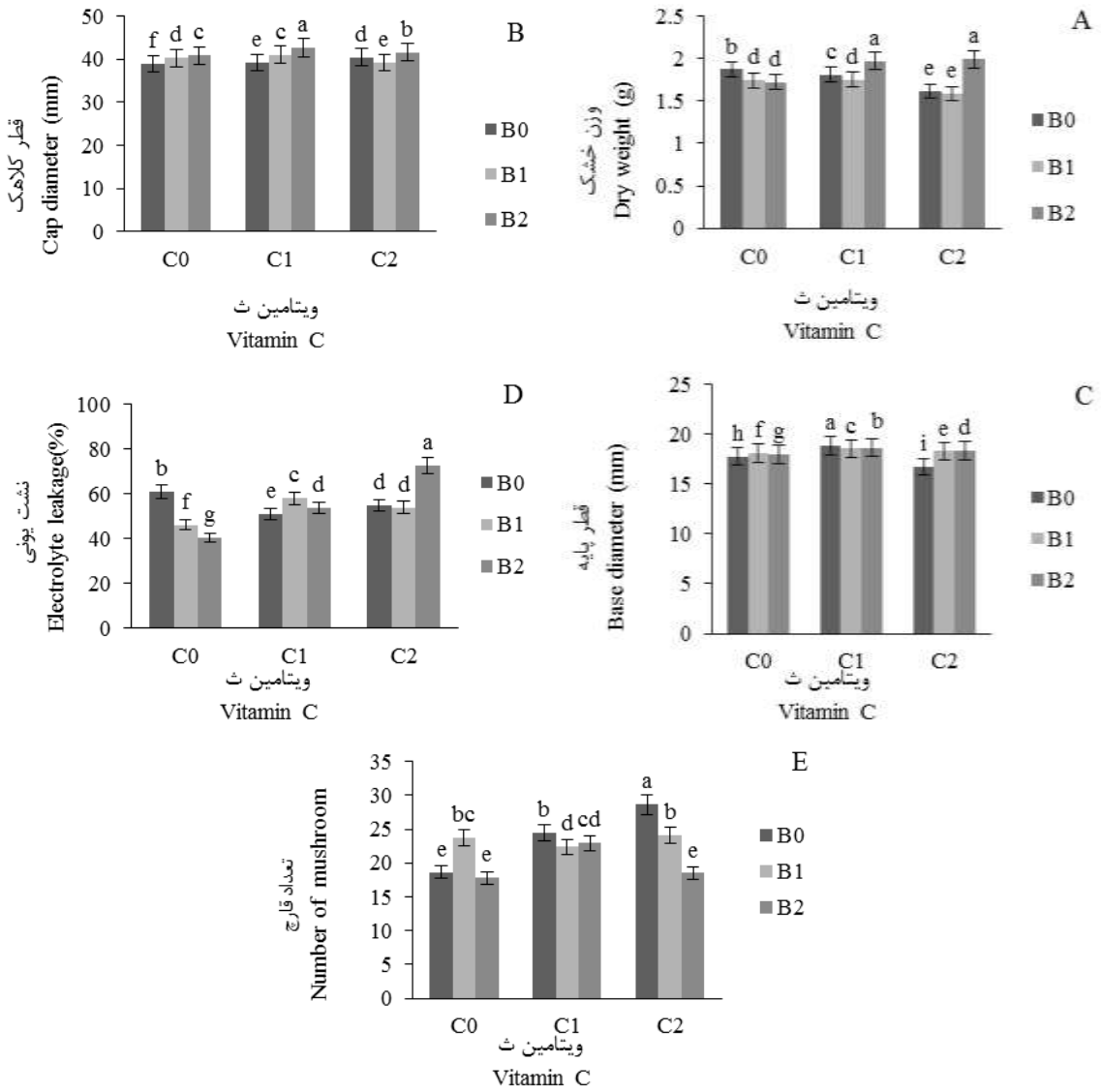
منابع تغییرات Sources of changes	درجه آزادی Degrees of freedom	نشت یونی Ion leakage	آخرین سختی پس از برداشت The last difficulty after harvest	تعداد قارچ Number of mushroom	عملکرد کل Total yeild	وزن درجه دو Second degree weight	وزن تر Fresh weight
C	2	3502.08**	287.15**	433.82**	175987**	1115.82**	10.08**
B	2	291.20**	564.29**	556.39**	**52266	495.91**	31.77*
B×C	4	4083.39**	278.98**	392.27**	**17598	2309.8**	20.11^{ns}
خطا Error	243	16.11	12.11	3.63	5.61	57.77	6.89
ضریب تغییرات CV	0.77	5.2	3.75	2.71	6.4	0.62	10.45

ns: غیر معنی‌دار، : **معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد و* : معنی دار در سطح احتمال۵ درصد

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

اثر متقابل کاربرد ویتامین ث و ویتامین ب بر خصوصیات کمی و کیفی قارچ خوراکی در زمان برداشت نشان داد، وزن خشک در C1 و C۲ با با کاربرد B2 افزایش و در C0 کاهش یافت. (شکل ۲– A). قطر کلاهک در همه‌ی غلظت‌های ویتامین C با کاربرد B2 افزایش یافت و C2 بیشترین میزان را داشت (شکل ۲– B). قطر پایه در C1 با فزودن همه‌ی غلظت‌های ویتامین ب بیشترین میزان را نسبت به سایر تیمارها داشت و در C2 با غلظت B0 کمترین میزان را داشت (شکل ۲– C). نشت یونی در C2 با کاربرد B2 افزایش و در C0 و C1 کاهش یافت (شکل ۲– D). تعداد قارچ در C1 و C2 با افزودن ویتامین B کاهش یافت و بیشترین تعداد در C2 با کاربرد B0 بود (شکل ۲– E).

وزن درجه‌دو در C0 و C1 به ترتیب با کاربرد B2 و B1 کاهش یافت (شکل ۳– A). عملکرد کل در همه‌ی غلظت‌های ویتامین C و با کاربرد B1 افزایش یافت. بیشترین میزان عملکرد کل در تیمار C1 با کاربرد B2 مشاهده شد. عملکرد کل در تیمار شاهد و C2 با افزایش B2 کاهش یافت (شکل ۳– B). سختی زمان برداشت در هر سه تیمار ویتامین C و با کاربرد B1 افزایش یافت اما افزایش غلظت B2 نسبت به B1 کاهش نشان داد. بیشترین میزان افزایش در تیمار شاهد ویتامین C و بیشترین میزان کاهش در تیمار C2 مشاهده شد (شکل ۳– C).



شکل ۲- اثرات متقابل کاربرد ویتامین C × ویتامین B روی وزن خشک (A)، قطر کلاهک(B)، قطر پایه(C)، نشت یونی(D) و تعداد قارچ(E) در زمان برداشت

C0 ، C1، C2 به ترتیب غلظت صفر، ۳ و ۶ میلی‌گرم ویتامین C در هر کیلوگرم کمپوست؛ B0، B1، B2 به ترتیب غلظت‌های صفر، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم ویتامین B در هر کیلوگرم کمپوست

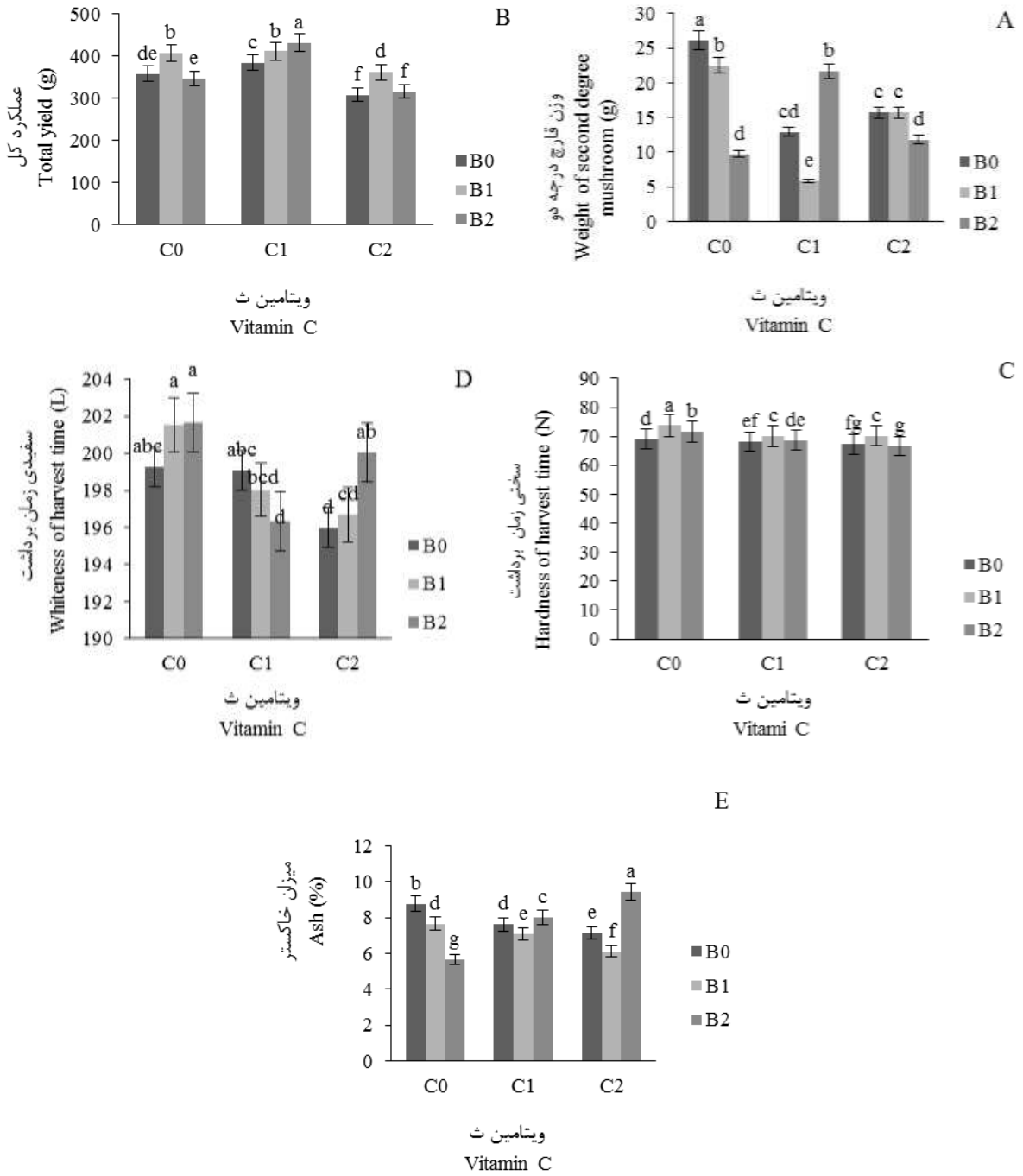
Figure 2- Interaction effects of vitamin C ×vitamin B application on dry weight (A), cap diameter (B), base diameter (C), electrolyte leakage (D) and number of mushroom (E) at harvest time

C0, C1, C2 indicate concentrations of 0, 3, and 6 mg of vitamin C per kg of compost, respectively; B0, B1, B2 indicate concentrations of 0, 0.5 and 1 mg of vitamin B per kg of compost, respectively.

(LSD, $p \leq 0.05$)

سفیدی زمان برداشت در C0 و C2 با افزودن ویتامین B افزایش و در C1 کاهش یافت، به‌طورکلی در تیمار شاهد ویتامین C در دو غلظت B1 و B2 بیشترین میزان سفیدی زمان برداشت مشاهده شد (شکل ۳- D). بیشترین میزان خاکستر در C2 با کاربرد B2 مشاهده شد (شکل ۳- E).

نتایج آزمایش دوم: میزان ازدست‌دهی آب در C1 با کاربرد B2 بیشترین میزان را نشان داد و در تیمار شاهد کمترین میزان را داشت (شکل ۴- A). سختی پس از ۳۲ روز انبارمانی در تیمار شاهد و C2 با کاربرد B1 افزایش نشان داد؛ اما در C1 و C2 با کاربرد B2 کاهش یافت (شکل ۴- B).



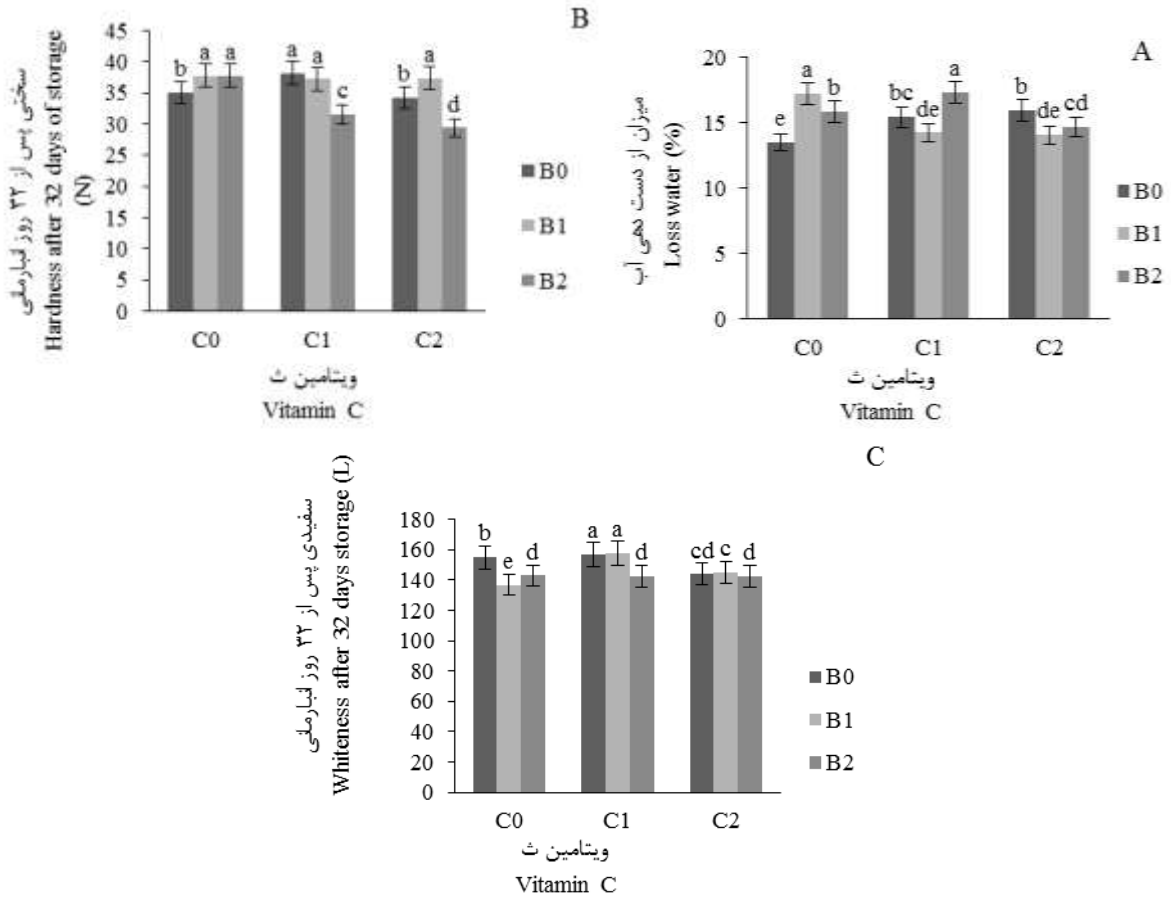
شکل ۳- اثرات متقابل کاربرد ویتامین C × ویتامین B روی وزن قارچ درجه دو(A)، عملکرد کل(B)، سختی (C)، سفیدی(D) و خاکستر(E) در زمان برداشت

C0، C1، C2 به ترتیب غلظت صفر، ۳ و ۶ میلی‌گرم ویتامین C در هر کیلوگرم کمپوست؛ B0، B1، B2 به ترتیب غلظت‌های صفر، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم ویتامین B در هر کیلوگرم کمپوست

Figure 3– Interaction effects of vitamin C ×vitamin B application on weight of second degree mushroom (A), total yield (B), hardness (C), whiteness (D) and ash (E) at mushroom harvest

C0, C1, C2 indicate concentrations of 0, 3, and 6 mg of vitamin C per kg of compost, respectively; B0, B1, B2 indicate concentrations of 0, 0.5 and 1 mg of vitamin B per kg of compost, respectively.

بیشترین میزان سفیدی پس از ۳۲ روز انبارمانی در C1 با کاربرد C1 مشاهده شد که با تیمار شاهد ازلحاظ آماری تفاوت معنی‌داری نداشت (شکل ۴- C).



شکل ۴- اثرات متقابل کاربرد ویتامین C × ویتامین B روی ازدست‌دهی آب (A)، سختی (B) و سفیدی (C) در زمان پس از برداشت.

C0، C1، C2 به ترتیب غلظت صفر، ۳ و ۶ میلی‌گرم ویتامین C در هر کیلوگرم کمپوست؛ B0، B1، B2 به ترتیب غلظت‌های صفر، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم ویتامین B در هر کیلوگرم کمپوست

Figure 4 – The interactions effect of vitamin C ×vitamin B on water loss (A), hardness (B), whiteness (C) at harvest time.
C0, C1, C2 indicate concentrations of 0, 3, and 6 mg of vitamin C per kg of compost, respectively; B0, B1, B2 indicate concentrations of 0, 0.5 and 1 mg of vitamin B per kg of compost, respectively.

بحث

هدف از کلیه مطالعات پس از برداشت کاهش فعالیت متابولیکی، حفظ خواص فیزیکی شیمیایی محصول، در طی انبارمانی است، نشانگرهای کیفیت قارچ تکمه‌ای شامل رنگ سفید، کلاهک بسته، پایه کوتاه، تردی، سفتی و بوی مطبوع می‌باشد که به‌سرعت پس از ۳-۱ روز در دمای محیط یا ۷-۵ روز در دمای ۲-۰ درجه سانتی‌گراد از بین می‌روند (Aday, 2016). در این پژوهش مشخص شد که صفات کمی و کیفی مورد مطالعه قارچ خوراکی تحت تأثیر غلظت‌های مختلف ویتامین ث و ویتامین ب قرار گرفت. تاثیرهای مفید ویتامین‌ها در بهبود کمی و کیفی محصولات دیگری هم گزارش‌شده است (Naguib and Khalil, 2002; Emam *et al.*, 2011; Youssef and Talaat, 2003) طبق نتایج به‌دست‌آمده از این مطالعه وزن خشک در C1 و C2 با کاربرد B2، افزایش و در C0 کاهش یافت. تحقیقات نشان داد کاربرد اسیدآسکوربیک و تیامین موجب افزایش وزن‌تر و خشک بوته در گیاه پنجه‌غازی و همیشه‌بهار می‌شود (Soltani *et al.*, 2014; Abdel-Aziz Nahed *et al.*, 2007). در رابطه با اثر مثبت ویتامین B بر صفات مذکور می‌توان بیان کرد که این اثر ناشی از نقش ویتامین B در سنتز پروتئین‌ها و

کربوهیدرات‌ها می‌باشد، درنتیجه تولید انرژی افزایش و همچنین میزان فتوسنتز گیاه بهبود می‌یابد و مواد غذایی بیشتری در اختیار گیاه قرارگرفته و منجر به افزایش صفاتی مانند ارتفاع بوته و وزن می‌شود (Abdel-Aziz Nahed *et al.*, 2007). قطر کلاهک و پایه با افزودن ویتامین در اکثر تیمارها افزایش یافت. یکی از علائم پیری و زوال قارچ دکمه‌ای باز شدن کلاهک است که موجب کاهش کیفیت و آزاد شدن اسپورها می‌شود (Braaksma *et al.*, 2001). میزان نشت یونی با افزایش غلظت ویتامین C افزایش معنی‌داری را نشان داد. اسیدآسکوربیک به علت داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالا سرعت واکنش‌های مرتبط با پیری را کاهش می‌دهد. اسیدآسکوربیک همچنین اکسیداسیون لیپیدهای را کاهش داده و پایداری غشا را بالا می‌برد. حفظ پایداری غشا توسط اسیدآسکوربیک با کاهش نشت یونی در این آزمایش مشخص می‌باشد. اسیدهای آمینه همچون ذرات الکتریکی باردار عمل می‌کنند این حالت به دلیل ماهیت ناقل یا حامل بودن آن‌ها در انتقال بار مثبت و منفی است. وقتی محصولات ساخته‌شده از اسیدهای آمینه در شرایط مناسب وارد گیاه می‌شوند، ذرات نوسان داری را در غشا سلول تشکیل می‌دهند که با حرکت در آن، منافذ یونی ایجاد می‌شوند و باعث نفوذ اسیدهای آمینه آزاد بیوسنتز شده به درون سلول می‌گردد. پس از ورود اسیدهای آمینه به سلول به‌واسطه خلوص بسیار بالا گیاه به‌راحتی این مواد را در درون خود می‌پذیرد و آن‌ها را همچون بخشی از ساختار خود در کلیه فرآیندهای متابولیکی تشکیل می‌دهد. این روند به گیاه امکان می‌دهد تا مقداری از انرژی خود را ذخیره کرده و درنتیجه در برابر تنش‌های ناشی از شرایط محیطی، استقامت و پایداری متابولیکی از خود بروز دهد. علاوه آن این جریان باعث رشد و ارتقا عمل بیوسنتز اسیدهای آمینه در گیاه شده و سبب افزایش کمی و کیفی محصولات گیاهی می‌گردد (Shaviv, 2001).

سفتی و نشت یونی همواره دارای همبستگی منفی می‌باشند. سفتی یکی از عوامل کلیدی در تصمیم‌گیری و تعیین کیفیت ازنظر مصرف‌کننده و همچنین یک شاخص بیان‌کننده میزان ماندگاری در محصول است (Ketelaere *et al.*, 2006). کاهش سفتی در طی انبارمانی بیان‌کننده میزان رسیدن، پیری و تولید رادیکال‌های آزاد است (Yang *et al.*, 2008). نتایج نشان داد وزن درجه‌دو در C0 و C1 به ترتیب با کاربرد B2 و B1 کاهش یافت همچنین به‌طورکلی در تیمار شاهد ویتامین C در دو غلظت B1 و B2 بیشترین میزان سفیدی زمان برداشت مشاهده شد. باگذشت زمان فعالیت آنزیمی افزایش می‌یابد. با توجه به اینکه قهوه‌ای شدن در قارچ تحت دو عامل حمله میکروبی و نیز فعالیت آنزیمی است درنتیجه گذشت زمان می‌تواند با تشدید فعالیت آنزیمی و حمله میکروبی، باعث شود رنگ قارچ‌ها به‌تدریج تیره‌تر و قهوه‌ای‌تر گردد (Munsch *et al.*, 2002). رنگ سفید مهم‌ترین شاخص کیفی ازنظر مصرف‌کننده در قارچ خوراکی است. برای افزایش بازارپسندی قارچ تکمه‌ای باید از قهوه‌ای شدن آن جلوگیری و رنگ سفید در طی انبارداری حفظ شود. آنزیم مؤثر در فرآیند قهوه‌ای شدن پلی فنل اکسیداز است. در حالت طبیعی مکان (سوبسترا) فنل و آنزیم توسط غشاهای سلولی از یکدیگر مجزا است ولی در اثر پیر شدن بافت قارچ و یا حمله عوامل میکروبی غشاهای سلولی صدمه‌دیده و منجر به واکنش قهوه‌ای شدن آنزیمی می‌گردد (Suttirak and Manurakchinakorn, 2011). اسید آسکوربیک به چند روش در کنترل قهوه‌ای شدن نقش دارد. با کاهش pH بافت موجب کاهش فعالیت آنزیم‌های خانواده پلی فنل اکسیداز می‌شود. از طرفی به علت داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی از فرآیندهای اکسیداسیونی جلوگیری و مانع اکسیداسیون فنل ها شده و قهوه‌ای شدن را به تأخیرمی اندازد (Golan-Goldhirsh and Whitaker, 1984). مشخص‌شده است این تیمارها در صورت استفاده در غلظت-های بالاتر از حد تحمل به‌عنوان اکسیداسیون قوی عمل نموده و آسیب به غشا و قهوه‌ای شدن را تحریک می‌نمایند. اثر مفید اسیدهای آلی در کنترل قهوه‌ای شدن در این پژوهش با مطالعات انجام‌شده بر روی سیب مطابقت دارد (Royse and Chalupa, 2009). بر اساس نتایج این آزمایش تعداد قارچ در C1 و C2 با افزودن ویتامین B کاهش یافت و بیشترین تعداد در C2 با کاربرد B0 مشاهده شد بر این اساس به نظر می‌رسد افزودن آسکوربیک‌اسید باعث افزایش تعداد قارچ می‌شود. عملکرد کل در همه‌ی غلظت‌های ویتامین C و با کاربرد B1 افزایش یافت. بیشترین میزان عملکرد کل در تیمار C1 با کاربرد B2 مشاهده شد. عملکرد کل در تیمار شاهد و C2 با افزایش 2B کاهش یافت و بیشترین میزان خاکستر در C2 با کاربرد B2 مشاهده شد. در مورد افزایش عملکرد بیولوژیکی با کاربرد تیامین و اسیدهای آمینه بر روی رازیانه گزارش کردند که تیامین باعث افزایش وزن خشک اندام هوایی می‌شود (Hendawy and Ezz EL-Din, 2010) همچنین طبق تحقیقی مشخص شد که محلول‌پاشی تیامین و آسکوریک‌اسید بر گیاه جعفری موجب افزایش معنی‌دار عملکرد می‌شود (Hosseini *et al.*, 2015).

نتایج آزمایش دوم نشان داد میزان ازدست‌دهی آب در C1 با کاربرد B2 بیشترین و در تیمار شاهد کمترین میزان را داشت. با توجه به نبود کوتیکول ضخیم در قارچ‌ها، از دست دادن آب که طی فرآیند تعرق رخ می‌دهد، می‌تواند تبدیل به یکی از مهم‌ترین مشکلات پس از برداشت قارچ شود که انبارمانی این محصول را به‌شدت پایین می‌آورد (Khan *et al.*, 2014) از دست دادن آب باعث می‌شود تغییرات قابل‌توجهی در سوخت‌وساز سلول ایجاد شود. خسارت وارده به غشای سلولی یکی از دلایل کاهش وزن محصول به شمار می‌رود (Sapers and Simmons, 1998) داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالا باعث شده است اسید آسکوربیک نیز همانند سایر اسیدهای آلی با

کاهش سرعت واکنش‌های مرتبط با پیری و اکسیداسیون لیپیدی، پایداری غشا را بالابرده و از این طریق خروج آب از سلول را کنترل و مانع از افت بیش‌ازحد وزن می‌شود (Toledo *et al.*, 2003) ولی در این آزمایش تأثیر مثبتی از این تیمار دیده نشد. سختی پس از ۳۲ روز انبارمانی در تیمار شاهد و C2 با کاربرد B1 افزایش نشان داد؛ اما در C1 و C2 با کاربرد 2B کاهش یافت. اسید آسکوربیک با نقش آنتی‌اکسیدانی خود، باعث حذف رادیکال‌های آزاد و تأخیر پیری می‌رود و از پراکسیداسیون غشای سلولی ممانعت می‌کند؛ بنابراین انتظار می‌رفت تیماری مؤثر در حفظ سفتی قارچ باشد که در این آزمایش چنین اثری مشاهده نشد. بیشترین میزان سفیدی پس از ۳۲ روز انبارمانی با کاربرد C1 مشاهده شد که با تیمار شاهد ازلحاظ آماری تفاوت معنی‌داری نداشت.

شاخص رنگ در قارچ مهم‌ترین ویژگی کیفی ازنظر مصرف‌کننده است. گزارش‌شده است یک عامل عمده در تغییر رنگ قارچ فعالیت آنزیم Polyphenoloxidase است که موجب افزایش میزان پلی فنل کل می‌شود (Toledo *et al.*, 2003). بین شاخص رنگ با پلی فنل کل همبستگی منفی ($P<0.01$) وجود داشت. پس افزایش در میزان پلی فنل موجب افزایش در میزان قهوه‌ای شدن می‌شود که به دنبال آن رنگ سفید قارچ کاهش می‌یابد. پلی فنل ها گروه مهمی از ترکیبات ثانویه هستند و نقش اساسی در افزایش مقاومت به شرایط تنش زنده و غیرزنده دارند (Wen *et al.*, 2005). پلی فنل ها همچنین بر کیفیت، عطر، طعم و ظاهر محصولات نیز مؤثر هست. گزارش‌شده است که اسیدآسکوربیک حتی در غلظت پایین بر فعالیت آنزیم PPO مؤثر است. اسیدآسکوربیک با کلاته کردن مس جایگاه فعال آنزیم، PPO موجب غیرفعال شدن آنزیم می‌گردد (Ramon *et al.*, 1993) اسیدآسکوربیک به‌عنوان یک سوبسترای اولیه موجب سمیت زدایی و خنثی کردن رادیکال‌های آزاد می‌شود (Jiang and Zhang, 2001). یکی از علل حفظ رنگ سفید و ممانعت از قهوه‌ای شدن در تیمارهای استفاده‌شده را می‌توان به کاهش جمعیت باکتری نسبت داد (Steams and Shelton, 2011). اسیدهای آلی مؤثر در پس از برداشت شامل اسید اگزالیک، اسید سیتریک، اسید تارتاریک و اسید آسکوربیک می‌باشند که با کاهش اسیدیته محصول، فعالیت باکتری و آنزیم را کاهش می‌دهند. آنزیم تیروزیناز در اسیدیته کمتر از ۴ حداقل فعالیت را دارد. اسیدهای مذکور همچنین جایگاه فعال آنزیم را کلاته و آنزیم را غیرفعال می‌کنند (Shaviv, 2001). اسیدآسکوربیک موجب بازگشت کوئینون به دی‌فنول می‌گردد که یک ترکیب بی‌رنگ است. همچنین جایگاه فعال آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز را از حالت Cu^{+2} به Cu^{+1} تبدیل و آنزیم غیرفعال می‌گردد (Shivhare *et al.*, 2004). نقش اسیدهای آلی در افزایش انبارداری بسیاری از محصولات باغبانی گزارش‌شده است (Simon *et al.*, 2010). اسید آسکوربیک با جلوگیری از تولید ترکیبات تیره‌رنگ ملانین می‌تواند بازارپسندی را حفظ کند (Shivhare *et al.*, 2004).

بزرگ‌ترین عامل محدودکننده‌ی توسعه‌ی صنعتی قارچ، عمر قفسه‌ای کوتاه آن است، طولانی‌تر کردن دوره ماندگاری قارچ پس از برداشت، با ممانعت از قهوه‌ای شدن آنزیمی و کنترل عوامل باکتریایی برای صنعت قارچ می‌تواند مفید باشد؛ بنابراین برای سودآوری بیشتر در تولید قارچ خوراکی، انتخاب مواد برای غنی‌سازی بستر کشت بسیار حائز اهمیت می‌باشد (Singh and Si Singh, 2007). درنتیجه پژوهشگران استفاده از بستر کشت و مکمل‌های غذایی را پیشنهاد دادند که تأثیر مثبت مکمل غذایی در بستر کشت می‌تواند به خاطر جبران کمبود مواد مغذی باشد (Shivhare *et al.*, 2004). تیامین اغلب در سلول به‌صورت فعال کو آنزیمی خود یعنی تیامین پیروفسفات که قبلاً کوکربوکسیلاز نامیده می‌شد وجود دارد. تیامین پیروفسفات در دو نوع از واکنش‌های آنزیمی که در جریان اصلی متابولیسم کربوهیدارت‌ها در آن‌ها گروه‌ها آلدئیدی از میان می‌روند و یا جابجا می‌شوند به‌عنوان کو آنزیم بکار می‌رود (Singh and Si Singh, 2007)؛ بنابراین گزارش‌شده است تیامین یک فاکتور رشد مهم برای گیاه است و برهمکنش قوی میان تیامین و اکسین برای تحریک ریشه نابجا در *Tetona grandis* وجود دارد (Tunc-Ozdemir *et al.*, 2009). در پژوهش‌هایی محققان بیان کردند که تیامین موجب حداکثر رشد میسیلیوم در شی‌تاکه (*L. edodes*) می‌گردد (Li *et al.*, 2019). در پژوهش دیگری محقق به این نتیجه دست‌یافت که غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر تیامین موجب تحریک رشد رویشی قارچ *L. edodes* می‌شود. بیوتین به‌عنوان یکی از مناسب‌ترین ویتامین‌ها برای رشد رویشی مورد ارزیابی قرار می‌گیرد (Singh and Si Singh, 2007). بهترین رشد میسلیوم قارچ *L.conatus* در غلظت ۰/۰۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر تیامین ثبت شد و با کمترین رشد رویشی در غلظت ۰/۰۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اسید آسکوربیک ثبت شد (Tavana and Dear, 2011). تیامین در میان ویتامین‌ها برای رشد میسلیوم قارچ *L. tuberregium* بهترین ویتامین محسوب می‌شود (Shivhare *et al.*, 2004).

نتیجه‌گیری

بررسی نتایج حاکی از آن است که اثر مکمل‌های غذایی بر عملکرد قارچ خوراکی متفاوت است به‌طوری‌که افزودن مقادیر مناسبی از مکمل‌های غذایی به بستر کشت، عملکرد محصول را به‌طور معنی‌داری افزایش می‌دهد. نتایج به‌دست‌آمده از این مطالعه نشان داد تیمار C1 ویتامین C بیشترین میزان وزن خشک و کل، قطر کلاهک، قطر پایه، تعداد قارچ را موجب شد. وزن‌تر و خشک قطر کلاهک و پایه، نشت یونی و میزان از دست دهی آب در تیمار B2 ویتامین B بیشترین میزان را داشت.

منابع

1. Abdel-Aziz Nahed G., Fatma E.M., and Farahat M.M. 2007. Response of vegetative growth and some chemical constituents of Syngonium podophyllum to foliar application of thiamine ascorbic acid and kinetin to Nurbaria. World Journal of Agricultural Science 3: 301-305.
2. Aday M.S. 2016. Application of electrolyzed water for improving postharvest quality of mushroom. LWT-Food Science and Technology 68: 44-51. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.12.014.
3. Atri N.S., and Guleria L. 2013. Evalution of vitamin, phytohormone and trace element requirements of *Lentinus cladopus*. International Journal of Pharmaceutical Sciences Research 54: 40-43.
4. Braaksma A., Schaap D.J., and Donkers J.W. 2001. Effect of cytokinin on cap opening in *Agaricus bisporus* during storage. Postharvest Biology and Technology, 23:171-179. https://doi.org/10.1016/S0925-5214(01)00114-4.
5. 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. https://doi.org/10.5897/AJAR11.1104.
6. Golan-Goldhirsh A., and Whitaker J.R. 1984. Effect of ascorbic acid, sodium bisulfite, and thiol compounds on mushroom polyphenol oxidase. Journal of Agricultural and Food Chemistry 32: 1003-1009.
7. Hendawy S.F., and Ezz EL-Din A.A. 2010. Growth and yield of Foeniculum vulgare var. azoricum as influensed by some vitamins and amino acids. Ozean Journal of Applied Science 3(1): 113-123.
8. Hosseini H., Farahmand H., and Saffari V. 2015. The effect of foliar application of ascorbic acid, thiamine and benzyl adenine on growth, flowering and some biochemical characteristics of marigold (*Tagetes erecta* L.). Journal of the Plant Production 38(2): 25-36.
9. Hosseini A., and Moradinezhad F. 2018. Effect of short-term high CO_2 treatment on quality and shelf life of button mushroom (*Agaricus bisporus*) at refrigerated storage. Journal of Horticulture and Postharvest Research, 11: 37-48. 10.22077/jhpr.2018.1198.1006.
10. Jiang M., and Zhang J. 2001. Effect of abscisic acid on active oxygen species, antioxidative efence system and oxidative damage in leaves of maize seedlings. Plant Cell Physiology 42: 1265-1275.
11. Ketelaere B.D., Scott Howarth M., Crezee L., Lammertyn J., Viaene K., Bulens K., and Baerdemaeker J.D. 2006. Postharvest firmness changes as measured by acoustic and low-mass impact devices: a comparison of techniques. Postharvest Biology and Technology 41: 275- 283. 10.1016/j.postharvbio.2006.04.008.
12. Khan Z.U., Aisikaer G., Khan R.U., Bu J., Jiang Z., Ni Z., and Ying T. 2014. Effects of composite chemical pretreatment on maintaining quality in button mushrooms (*Agaricus Bisporus*) during postharvest storage. Postharvest Biology and Technology 95: 36-41. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2014.04.001.
13. Khan Z.U., Jiayin L., Khan N.M., Mou W., Li D., Wang Y., Feng S., Luo Z., Mao L., and Ying A. 2017. Suppression of cell wall degrading enzymes and their encoding genes in button mushrooms (*Agaricus bisporus*) by $CaCl_2$ and citric acid. Plant Foods for Human Nutrition 72(1): 54-59.
14. Lei J., Li B., Zhang N., Yan R., Guan W., Brennan C., Gao H., and Peng B. 2018. Effects of UV-C treatment on browning and the expression of polyphenol oxidase (PPO) genes in different tissues of *Agaricus bisporus* during cold storage. Postharvest Biology and Technology 139: 99-105. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.11.022.
15. Li B., Ding Y., Tang X., Wang G., Wu S., Li X., and Tang X. 2019. Effect of l-arginine on maintaining storage quality of the white button mushroom (*Agaricus bisporus*). Food and Bioprocess Technology, 12(4): 563-574. 10.1007/s11947-018-2232-0
16. Lutts S., Kinet J.M., and Bouharmont J. 1995. Changes in plant response to NaCl during development of rice (*Oryza sativa* L.) varieties differing in salinity resistance. Journal of Experimental Botany 46: 1843-1852.
17. Munsch P., Johnstone K., and Alatossava T. 2002. Evidence for genotypic differences between the two siderovars of pseudomonas tolaasii, cause of brown blotch disease of the cultivated mushroom *Agaricus Bisporus*. Microbiological Research 157: 93-102. https://doi.org/10.1078/0944-5013-00141.
18. Naguib N.Y., and Khalil M.Y. 2002. Studies on the effect of dry yeast thiamine and biotin on the growth and chemical constituents of black cumin (*Nigella sativa* L.). Arab Universities Journal of Agricultural Sciences 10(3): 919-937.
19. Ramon Ros J., Rodriguez-Lopez J.N., and Garcia-Canovas F. 1993. Effect of Lascorbic acid on the monophenolase activity of tyrosinase. Biochemical Journal 295: 309-315.
20. Royse D.J., and Chalupa W. 2009. Effects of spawn, supplement and phase II compost additions and time of re-casing second break compost on mushroom (*Agaricus bisporus*) yield and biological efficiency. Bioresource Technology 100: 5277-5282. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.02.074.
21. Sapers G.M., and Simmons G.F. 1998. Hydrogen peroxide disinfection of minimally processed fruits and vegetables. Food Technology 52: 48-52.
22. Simon A., González-Fandos E., and Vozquez M. 2010. Effect of washing with citric acid and packaging in

modified atmosphere on the sensory and microbiological quality of sliced mushrooms (*Agaricus bisporus*). Food Control 21: 851-856. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2009.11.012.

23. Singh R., and Si Singh Y. 2007. Advanced cultivation of edible fungi. Knowledgeable Publications, Rasht. (In Persian)
24. Singh R. 2010. Physiological and biochemical investigations for the cultivation of *Lentinus squarrosulus* (Mont.) Singer. Ph.D. Thesis. Punjabi University of Patiala, India.
25. Shaviv A. 2001. Advances in controlled-release fertilizers. Advances in Agronomy 71: 1-49.
26. Shivhare U.S., Arora S., Ahmed J., and Raghavan G.S.V. 2004. Moisture adsorption isotherms for mushroom. LWT- Food Science and Technology 37: 133-137.
27. Soltani Y., Saffari V.R., and MaghsoudiMoud A.A., 2014. Response of growth, flowering and some biochemical constituents of *Calendula officinalis* L. to foliar application of salicylic acid, ascorbic acid and thiamine. Ethno-Pharmaceutical products. Ethno-Pharmaceutical Products 1(1):37-44.
28. Steams P., and Shelton J.S. 2011. Comprehensive and illustrated guide to growing edible mushrooms. Jafarnia, S. and Daei, M. (Translators). Sokhan Gostar Publications, Mashhad. (In Persian)
29. Suttirak W., and Manurakchinakorn S. 2011. Potential application of ascorbic acid, citric acid and oxalic acid for browning inhibition in fresh-cut fruits and vegetables. Walailak Journal of Science and Technology 7: 5-14. https://doi.org/10.2004/wjst.v7i1.47
30. Tavana M., and Dear M. 2011. Acquisition of technical knowledge for the production of Ganoderma medicinal fungi. Ferdowsi University of Mashhad Publications, Mashhad. (In Persian)
31. Toledo M.E.A., Ueda Y., Imahori Y., and Ayaki M. 2003. L-ascorbic acid metabolism in spinach (*Spinacia oleracea* L.) during postharvest storage in light and dark. Postharvest Biology and Technology 28: 47-58. https://doi.org/10.1016/S0925-5214(02)00121-7.
32. Tunc-Ozdemir M., Miller G., Song L., Kim J., Sodek A., Koussevitzky Sh., Misra A.N., Mittler R., and Shintani D. 2009. Thiamin confers enhanced tolerance to oxidative stress in *Arabidopsis*. Journal of Plant Physiology 151: 421-32. https://doi.org/10.1104/pp.109.140046.
33. Wen P.F., Chen J.Y., Kong W.F., Pan Q.H., Wan S.B., and Huang W.D. 2005. Salicylic acid induced the expression of phenylalanine ammonia-lyase gene in grape berry. Plant Science 169: 928- 938.
34. Yang S., Su X., Prasad K.N., Yang B., Cheng G., Chen Y., and Jiang Y. 2008. Oxidation and peroxidation of postharvest banana fruit during softening. Pakistan Journal of Botany 40: 2023-2032.
35. Youssef A.A., and Talaat I.M. 2003. Physiological response of rosemary plants to some vitamins. Egyptian Pharmaceutical Journal 14: 81-93.
36. Zhang L., Liu Z., Wang X., Dong S., Sun Y., and Zhao Z. 2019. The properties of chitosan/zein blend film and effect of film on quality of mushroom (*Agaricus bisporus*). Postharvest Biology and Technology 155: 47-58. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2019.05.013.

Journal of Horticultural Science
https:// jhs.um.ac.ir

Research Article
Vol. 36, No. 1, Spring 2022, p. 57-69

Effect of Hormonal Combination of Auxin and Cytokinin on Micropropagation of Eastern Lily (*Lilium* oriental hybrid 'Casablanca') Plant Using Bulb Scale Explant

N. Javaheri[1], B. Kaviani[2]*

Received: 05-01-2021
Revised: 31-01-2021
Accepted: 17-04-2021
Available Online: 20-06-2022

How to cite this article:
Javaheri N., and Kaviani B. 2022. Effect of Hormonal Combination of Auxin and Cytokinin on Micropropagation of Eastern Lily (*Lilium* oriental hybrid 'Casablanca') Plant Using Bulb Scale Explant. Journal of Horticultural Science, 36(1): 57-69. (In Persian with English abstract)
DOI: 10.22067/JHS.2021.67900.1007

Introduction

Lily, a member of the genus *Lilium*, belonging to the Liliaceae family is one of the most important commercial pot and cut flower species and one of the three major bulb crops in the commercial market because of its large, colorful and fascinating flowers. Lily hybrids are the most economically important plants with varied flowers. Hybrid Eastern lily (*Lilium* oriental hybrid 'Casablanca') is a perennial bulbous plant that its propagation by bulb in natural condition is time-consuming, so produces 1–2 bulblets per bulb scale in one years' time which is not sufficient for large scale cultivation of this plant. One of the most important and best methods for vegetative propagation and breeding of lilies is *in vitro* bulb scale culture. *In vitro* adventitious bud regeneration from scales of *Lilium* rely on many factors like cytokinin and auxin concentrations such as BA and NAA. The successful use of tissue culture techniques for rapid propagation of some species of the genus *Lilium* including *L. ledebourii*, *L. orientalis*, *L. longiflorum*, *L. japonicum*, *L. speciosum*, *L. concolor*, *L. nepalense*, *L. regale*, *L.* oriental hybrid, *L.* Asiatic hybrid has been reported. The purpose of the current study was to evaluate the effect of different concentrations of BA and NAA on *in vitro* proliferation of *Lilium* oriental hybrid 'Casablanca' using bulb scale as explant to establish a suitable protocol.

Materials and Methods

Effect of various concentrations of 6-benzyle adenine (BA; 0, 0.5, 1 and 2 mg l^{-1}) and α-naphtaleneacetic acid (NAA; 0, 0.1, 0.2 and 0.4 mg l^{-1}) were evaluated on *in vitro* proliferation of *L.* 'Oriental'. Bulb scale as explant and MS basal medium as culture medium were used. Activated charcoal was applied to inhibit the browning of the culture medium and explant. The experiments were conducted in completely randomized design (CRD). The 16 treatments were applied, each treatment had 4 replications and each replication had 4 individuals. Therefore, in these experiments, a total of 192 bulbs were used. Traits including total plantlets fresh weight, leaf length, leaf number, bulblet weight, bulblet diameter, bulblet number, survival percentage, root length and root number related to *in vitro* proliferation were measured. All the statistical analyses were done by using SAS and Tukey's test. Arcsin software was used for changing percent data.

Results and Discussion

The interaction effect of BA and NAA was significant for all measured traits. Results showed that the maximum number of bulblet (8.66) and root (5.36) were obtained in culture medium enriched with 0.5 mg l^{-1} BA together with 0.4 mg l^{-1} NAA. Culture media supplemented with 0.5 mg l^{-1} BA together with 0.2 mg l^{-1} NAA and 1 mg l^{-1} BA together with 0.1 mg l^{-1} NAA with induction of 7.33 bulblets per explant were suitable media. The largest number of leaf (4.33) was measured in culture medium containing 1 mg l^{-1} BA together with 0.1 mg l^{-1} NAA. The highest bulblet weight was measured in culture medium supplemented with 1 mg l^{-1} BA

1 and 2- M.Sc. Student and Associate Professor, Department of Horticultural Science, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: kaviani@iaurasht.ac.ir)

along with 0.2 mg l^{-1} NAA. The greatest survival rate (100%) was observed in medium enriched with 0.5 mg l^{-1} BA together with 0.1 mg l^{-1} NAA. Survival rate (90%) in explants treated with 2 mg l^{-1} BA along with 0.4 mg l^{-1} NAA was high. Obtained results revealed that the presence of both BA and NAA in culture media for enhancement of most traits is necessary and critical. Plantlets were transferred to a growing medium containing cocopeat, peat moss and perlite in identical proportion for acclimatization following proliferation. Approximately, 90% of regenerated plantlets survived and were morphologically similar to the mother stocks. This study will help the producers and breeders for commercial and improvement purposes. The effective role of the simultaneous presence of both auxin and cytokinin in the culture medium in effective organogenesis was shown in the present study. Similar findings were reported for some lilies such as *L. ledebourii* (Baker) Bioss., *L. longiflorum* and *L. regale*. Auxin was effective in stimulating bulb production and growth of the aerial part of the eastern lily, and its presence along with cytokinin is essential for leaf induction. Some studies have reported similar results. The type and optimal concentration of plant growth regulators (PGRs) in the culture medium for suitable *in vitro* propagation varies in different species. Genetic variations (species type), differences in the amount of endogenous production of PGRs and their interaction with each other are among some reasons for this difference. The proper ratio of auxin and cytokinin in the culture medium is effective for inducing cell division, cell differentiation, organogenesis and finally for achieving a complete plant. Root production with appropriate quantity and quality leads to the suitable survival of seedlings resulting from the growth of cultured explants under *in vitro* conditions and adapted plants. Current study showed that the presence of both BA and NAA is better than the presence of one of these two PGRs for induction and growth of root. Some similar findings were reported, however in most studies, the presence of auxin as individual PGR has been found to be more suitable for root induction.

Keywords: Bulbous plants, Liliaceae, Plant growth regulators, Tissue culture

نشریه علوم باغبانی
https:// jhs.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۶، شماره ۱، بهار ۱۴۰۱، ص ۶۹-۵۷

اثر ترکیب هورمونی اکسین و سیتوکینین بر ریزازدیادی گیاه سوسن شرقی (*Lilium* oriental hybrid ‘Casablanca’) با استفاده از ریزنمونه‌ی فلس پیاز

نیما جواهری[۱]- بهزاد کاویانی[۲*]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۰/۱۶
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۱/۲۸

چکیده

تکثیر سوسن شرقی دورگ (*Lilium* oriental hybrid ‘Casablanca’)، به عنوان یک گیاه پیازدار چند ساله از خانواده‌ی لیلیوم (Liliaceae) در شرایط درون‌شیشه‌ای به دلیل فرآیند زمانبر تکثیر به روش طبیعی آن با استفاده از پیاز از اهمیت زیادی برخوردار است. از فنون کشت درون‌شیشه‌ای به دلیل باززایی سریع مواد گیاهی و تولید انبوه و یکنواخت گیاهان، در برنامه‌های اصلاحی و تولید تجاری سوسن‌ها استفاده می‌شود. در این تحقیق به منظور افزایش سرعت تکثیر، اثر غلظت‌های مختلف ۶-بنزیل آدنین (BA؛ صفر، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر) و α-نفتالن استیک اسید (NAA؛ صفر، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر) بر تکثیر درون‌شیشه‌ای سوسن شرقی دورگ کازابلانکا ارزیابی شد. فلس پیاز به عنوان ریزنمونه، محیط پایه‌ی MS به عنوان محیط کشت و زغال فعال به عنوان جاذب ترکیبات فنلی به منظور ممانعت از قهوه‌ای شدن محیط کشت و ریزنمونه استفاده شدند. بعد از ۹۰ روز کشت، برخی صفات مرتبط با تکثیر درون‌شیشه‌ای از جمله رشد و نمو پیازچه‌ها، برگچه‌ها و ریشه‌ها اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان دادند که بیشترین تعداد پیازچه (۸/۶۶) و ریشه (۵/۳۶) در محیط کشت غنی‌شده با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BA همراه با ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر NAA و بیشترین تعداد برگ (۴/۳۳) در محیط کشت حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر BA همراه با ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA تولید شدند. بعد از تکثیر، گیاهچه‌ها برای سازگاری به بستری از کوکوپیت، پیت‌ماس و پرلیت به نسبت مساوی منتقل شدند که حدود ۹۰ درصد از گیاهچه‌های باززایی‌شده بقا داشتند و از نظر ریخت‌شناسی شبیه پایه‌های مادری بودند. بر اساس نتایج حاصل از پژوهش، حضور هر دو تنظیم‌کننده‌ی رشد اکسین NAA و سیتوکینین BA برای ریزازدیادی بهینه (تولید پیازچه، برگچه و ریشه) بهینه‌ی سوسن شرقی دورگ کازابلانکا لازم است.

واژه‌های کلیدی: زغال فعال، رشد پیازچه، سوسنیان، گیاهان زینتی، کشت درون‌شیشه‌ای

مقدمه

سوسن شرقی (*Lilium* oriental) از خانواده‌ی سوسنیان (Liliaceae)، یک گونه‌ی زینتی گلدانی و شاخه‌بریده است (Youssef *et al*., 2019). جنس سوسن دارای ۱۰۰ تا ۱۱۵ گونه با تنوعی از شکل، رنگ و اندازه‌ی گل است که این ویژگی‌ها آنرا به عنوان یکی از مهم‌ترین جنس‌های گیاهان گلدانی و شاخه‌بریده با اهمیت تجاری بالا مطرح کرده است (Robinson and Firoozabady, 1993; Youssef *et al*., 2019). دورگ‌های این گیاهان نیز با داشتن گل‌های متنوع یکی از مهم‌ترین گروه‌های تجاری گیاهان پیازی هستند (Roh, 2011; Younis *et al*., 2014). سرعت تکثیر رویشی سوسن در طبیعت که عمدتاً از طریق فلس‌های پیاز و ساقه انجام می‌شود، بسیار پایین است. با توجه به اینکه یکی از اهداف محققان و تکثیرکنندگان معرفی ارقام جدید سوسن به بازار است، بنابراین، این فرآیند نیز به کندی انجام می‌شود (Gerrits and De Klerk, 1999; Wu *et al*., 2019-Langens). به همین جهت، استفاده از فنون کشت درون‌شیشه‌ای با تولید انبوه و باززایی سریع مواد گیاهی یکنواخت و یک‌شکل به منظور اصلاح و کاربرد

۱ و ۲- به ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد و دانشیار، گروه باغبانی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: kaviani@iaurasht.ac.ir)
DOI: 10.22067/JHS.2021.67900.1007

تجاری سوسن‌ها ضروری است (Muhammad Pelkonen, 2005 ; *et al.*, 2013). کشت درون‌شیشه‌ای، یک ابزار ممتاز و یک فناوری پیشرفته‌ی تکثیر سریع رویشی برای تولید تعداد زیادی گیاهان عاری از عوامل بیماری‌زا در یک بازه‌ی زمانی کوتاه در یک فضای محدود است، که همچنین می‌تواند به حفظ گونه‌های در معرض خطر انقراض و ذخیره و تبادل ژرم‌پلاسم نیز کمک نماید (Kaviani, 2020). در کشت درون شیشه‌ای سوسن‌ها، استفاده از پیازچه به دلیل انجام راحت‌تر مراحل کار، قوی‌تر بودن و ضد عفونی مطمئن‌تر نسبت به استفاده از برگچه‌ها ارجحیت دارد (Wu *et al.*, 2019). در طی سازگاری گیاهچه‌های تولید شده در شرایط درون شیشه‌ای با شرایط برون‌شیشه‌ای، هر چه پیازچه‌های تولیدی در شرایط درون‌شیشه‌ای بزرگ‌تر باشند، گیاهچه‌ها سازگاری بهتری در شرایط برون‌شیشه‌ای خواهند داشت، برگچه‌ها رشد بیشتری می‌کنند و ورود به مرحله‌ی گلدهی سریع‌تر اتفاق می‌افتد (Langens-Gerrits *et al.*, 2003 ; Lian *et al.*, 2003a; Wu *et al.*, 2019). بنابراین، بقای گیاهچه‌ها بیشتر تضمین می‌شود و مرحله‌ی اصلاحی با سرعت بیشتری طی می‌گردد (Wu *et al.*, 2019Podwyszyńska, 2012 ;).

کاربرد موفقیت‌آمیز فنون کشت بافت برای تکثیر سریع برخی گونه‌های جنس سوسن (*Lilium*) از جمله *L. longiflorum* (Nhut ; Nhut *et al.*, 2002; Bacchetta *et al.*, 2003; *et al.*, 2001 Chang et al., 2000)، *L. speciosum* (Nhut, 2003; Han *et al.*, 2004)، *L. nepalense* (Wawrosch *et al.*, 2001)، *L.* Oriental و Asiatic دورگ (Lian *et* Lian *et al.*, 2002a ; Lian *et al.*, 2003; Han *et al.*, 2004; Kumar *et al.*, 2008; Taha *et al.*, 2018) و *L. ledebourii* (Azadi and Khush-khui, 2007)، *Lilium* sp. (Kumar *et al.*, 2006)، *L. orientalis* cv. Starfighter (Youssef *et al.*, 2019) گزارش شده است. یکی از مناسب‌ترین و پرکاربردترین روش تکثیر رویشی سوسن، کشت فلس پیاز در شرایط درون‌شیشه‌ای است (Bahr and Compton, 2004 ; Han *et al.*, 2004; Azadi and Khush-khui, 2007; Youssef *et al.*, 2019). باززایی جوانه‌ی نابجا از فلس‌های سوسن به عواملی مانند نوع و غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی به ویژه اکسین و سیتوکینین و موقعیت فلس یا نوع ریزنمونه بستگی دارد (Paek and Azadi and Khush-khui, 2007Murthy, 2002 ;). از غلظت‌های مختلف NAA و BA در ترکیب با یکدیگر برای تکثیر درون‌شیشه‌ای برخی گونه‌ها و ارقام سوسن استفاده شده است (Azadi and Joshi and Dhar, 2009; Mir *et al.*, Khush-khui, 2007; 2012; Youssef *et al.*, 2019). سایر تنظیم کننده‌های رشد گیاهی نیز برای اندام‌زایی مستقیم و غیر مستقیم به کار گرفته شدند (Han *et al.*, 2004Robinson and Firoozabady, 1993;). در سوسن چلچراغ (*L. ledebourii* (Baker) Bioss.)، بیشترین تعداد پیازچه و بالاترین درصد ریشه‌زایی با کشت فلس پیاز روی محیط کشت غنی‌شده با ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر BA همراه با ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA به دست آمد (Azadi and Khush-khui, 2007). مطالعه روی رقم ‘Casablanca’ سوسن شرقی نشان داد که ریزنمونه‌ی فلس پیاز در محیط کشت حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BA بیشترین تعداد برگچه را تولید کرد. همچنین با استفاده از قطعات کوچک برگچه به عنوان ریزنمونه و کشت در محیط حاوی هر دو تنظیم کننده‌ی رشد BA و IAA همراه با زغال فعال، بیشترین تعداد شاخه تولید شد (Han *et al.*, 2004). کشت فلس پیاز در محیط کشت حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA همراه با ۲ میلی‌گرم در لیتر BA در *L. longiflorum* (Mir *et al.*, 2012) و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA همراه با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BA در *L.* ‘Geogia’ *longiflorum* (Han et al., 2004) منجر به تولید بالاترین درصد پیازچه و شاخه شد. کارایی NAA و BA در رشد و نمو پیازچه، برگچه و ریشه در سه گونه‌ی سوسن (*concolor*، *amabile* و *callosum*) متغیر بود (Jeong, 1996). غلظت‌های بیشتر از یک میلی‌گرم در لیتر NAA با یا بدون BA از رشد پیازچه، برگچه و ریشه ممانعت به عمل آوردند، در حالی که استفاده از غلظت ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر NAA به تنهایی یا در ترکیب با غلظت‌های ۰/۰۱ تا ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر BA باعث افزایش رشد و تعداد در این اندام‌ها شد. در گونه‌های *amabile* و *callosum* استفاده از غلظت‌های یک تا ۱۰ میلی‌گرم در لیتر NAA موجب تولید کالوس گردید (Jeong, 1996). رشد بهتر پیازچه در محیط کشت حاوی زغال فعال در برخی ارقام سوسن شرقی از جمله رقم ‘Casablanca’ گزارش شد (Han *et al.*, 2004).

در بررسی منابع مشخص گردید که برای ریزازدیادی موفق گونه‌ها و ارقام مختلف سوسن، اغلب از فلس پیاز به عنوان ریزنمونه و از NAA و BA به عنوان تنظیم‌کننده‌های رشد اکسینی و سیتوکینینی استفاده شده است. مطالعه روی ریزازدیادی سوسن شرقی بسیار اندک انجام شده است. بنابراین، هدف از انجام این پژوهش، اثر غلظت‌های مختلف NAA و BA روی تکثیر درون شیشه‌ای سوسن شرقی دورگ (*Lilium* oriental hybrid ‘Casablanca’) و افزایش سرعت آن به روش اندام‌زایی مستقیم با استفاده از ریزنمونه‌ی فلس پیاز بود. استفاده از نوع، غلظت و ترکیب بهینه‌ی تنظیم کننده‌های رشد گیاهی، روند رشد و نمو و تکثیر این گیاه را تسریع می‌کند، بر میزان بقای گیاهچه‌ها بعد از انتقال برون شیشه‌ای و در طی مرحله‌ی سازگاری می‌افزاید و احتمال اصلاح را افزایش می‌دهد.

مواد و روش‌ها

شرایط آزمایش، ریزنمونه و ضدعفونی آن‌ها

این تحقیق طی سال‌های ۱۳۹۹-۱۳۹۸ در موسسه‌ی تحقیقات بیوتکنولوژی و علوم کشاورزی هیرکان (شرکت هیرکان فناور آزما) واقع در شهر آمل استان مازندران به مرحله‌ی اجرا در آمد. پیاز سوسن شرقی دورگ (*Lilium* oriental hybrid 'Casablanca')، به عنوان نمونه‌های گیاهی از بازار گل تهران خریداری شد. فلس‌های آسیب‌دیده و آلوده حذف و فلس‌های سالم از طبق جدا شدند و به عنوان منبع ریزنمونه ضد عفونی شدند. فلس‌ها پس از ضد عفونی و قبل از استفاده و قرارگیری در محیط کشت، به دو نیمه‌ی مساوی به ابعاد ۷ در ۷ میلی‌متر برش زده شدند. ضد عفونی نمونه‌ها با استفاده از قارچ‌کش، اتانول، هیپوکلریت سدیم و کلرید جیوه انجام شد. در ابتدا، نمونه‌های گیاهی به مدت یک ساعت در زیر جریان روان آب شهری همراه با چند قطره مایع ظرفشویی به‌خوبی شسته شدند و سپس نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در محلول قارچ‌کش رورال تی‌اس (متالاکسیل) قرار داده شدند، و بعد از آن با آب مقطر شستشو گردیدند. از اتانول ۷۰ درصد به مدت ۳۰ ثانیه استفاده شد و ۳ بار شستشوی کامل با آب مقطر استریل در زیر هود انجام گرفت. نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در هیپوکلریت سدیم (با یک درصد کلراید قابل دسترس) قرار داده شدند و سپس ۳ بار با آب مقطر استریل مورد شستشو قرار گرفتند و در نهایت به مدت ۱۰ دقیقه در محلول ۰/۱ درصد کلرید جیوه غوطه‌ور گردیدند و پس از آبکشی کامل با آب مقطر استریل مورد استفاده قرار گرفتند.

محیط کشت، تیمارها و شرایط نگهداری ریزنمونه‌ها

محیط کشت مورد استفاده، محیط پایه‌ی MS (Murashige and Skoog, 1962) بود که مقدار ۳۰ میلی‌لیتر از آن درون هر ارلن حاوی تیمارهای هورمونی توزیع گردید. تیمارهای هورمونی، غلظت‌های صفر، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر BA و صفر، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر NAA (۱۶ تیمار) بودند که به صورت انفرادی و یا در ترکیب با یکدیگر استفاده شدند. برای هر تیمار، ۴ تکرار (۴ شیشه‌ی مربا) در نظر گرفته شد و هر تکرار شامل ۴ مشاهده (۴ ریزنمونه در هر شیشه) بود. از آنجایی که شیشه‌ی مربا و ظرف درب‌دار پلاستیکی مدرج نیستند، برای برداشت مقادیر یکسان و دقیق از محیط‌های کشت، آن‌ها ابتدا در استوانه‌ی مدرج ریخته شدند سپس در شیشه‌های مربا و ظروف درب‌دار پلاستیکی توزیع گردیدند. اسیدیته (pH) محیط کشت قبل از اتوکلاو، برابر با ۵/۸-۵/۶، آگار ۰/۸ درصد و ساکارز ۳ درصد بود. از غلظت ۰/۳ درصد زغال فعال برای جلوگیری از قهوه‌ای شدن ریزنمونه‌ها استفاده شد. محیط‌های کشت همچنین حاوی ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر مایواینوزیتول، ۵ میلی‌گرم در لیتر نیاسین، ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر پیریدوکسین، ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر تیامین، ۲ میلی‌گرم در لیتر گلایسین و ۱ گرم در لیتر کازیین هیدرولیزات بودند. محیط‌های کشت در اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه‌ی سانتی‌گراد و فشار یک اتمسفر به مدت ۳۰ دقیقه ضدعفونی شدند. محیط‌های کشت حاوی ریزنمونه‌ها در اتاق رشد تحت فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی، دمای ۱ ± ۲۴ درجه‌ی سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۸۰-۷۵ درصد و جریان تراکم فتون فتوسنتزی ۵۰ میکرومول بر متر مربع بر ثانیه نگهداری گردیدند.

صفات اندازه‌گیری شده و شرایط سازگاری گیاهچه‌ها

بعد از گذشت حدود ۹۰ روز از کشت، وزن کل گیاهچه، طول برگ، تعداد برگ، وزن پیازچه، قطر پیازچه، تعداد پیازچه، درصد زنده‌مانی پیازچه، طول ریشه و تعداد ریشه اندازه‌گیری شدند. در طی این ۹۰ روز، چهار بار واکشت به ترتیب با فواصل ۲۰، ۲۰، ۲۵ و ۲۵ روز انجام شد. ظروف اولیه برای کشت فلس‌های پیاز، شیشه‌های مربا بودند و واکشت نمونه‌های گیاهی در ظروف درب‌دار پلاستیکی انجام شد. اندازه‌گیری صفات وزنی اندام‌ها با ترازوی دیجیتال و صفات طولی اندام‌ها با خط‌کش انجام شد و تعداد اندام‌ها با چشم غیرمسلح شمارش گردید. گیاهچه‌های بالغ با آب مقطر استریل شسته شده و به گلدان‌های پلاستیکی حاوی پیت‌ماس، کوکوپیت و پرلیت به نسبت مساوی منتقل گردیدند. گلدان‌ها در یک گلخانه با دمای ۲۶-۲۴ درجه‌ی سلسیوس و رطوبت نسبی ۸۵ درصد و نور ۵۰۰۰ لوکس با آبیاری منظم به مدت یک ماه نگهداری شدند تا مرحله‌ی سازگاری انجام شود.

طرح آماری و تجزیه‌ی داده‌ها

طرح آزمایشی مورد استفاده؛ فاکتوریل (فاکتور اول، تنظیم‌کننده رشد BA و فاکتور دوم، تنظیم‌کننده رشد NAA) در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی (RCBD) با چهار تکرار بود. تجزیه‌ی داده‌ها به کمک نرم‌افزار SAS (شماره‌ی ۹/۴) و مقایسه میانگین‌ها با روش توکی در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت. از Arcsin برای تبدیل داده‌های درصدی استفاده شد. کرت‌ها، ظروف درب‌دار پلاستیکی حاوی ریزنمونه‌ها بودند. مشاهده هر ۲ هفته یک‌بار انجام شد.

نتایج

وزن گیاهچه و رشد و نمو برگ

تفاوت‌های وزن تر کل گیاهچه در ریزنمونه‌های رشد یافته تحت غلظت‌های مختلف تنظیم کننده‌های رشد گیاهی NAA و BA معنی‌دار بود (جدول ۱). کمترین وزن تر کل گیاهچه (۱/۶۰ گرم) در سوسن شرقی در ریزنمونه‌های شاهد به‌دست آمد و بیشترین وزن کل گیاهچه (۵/۸۴ گرم) در ریزنمونه‌های تیمارشده با ۱ میلی‌گرم در لیتر BA همراه با ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر NAA به دست آمد (جدول ۲). وزن کل گیاهچه (۴/۷۰ گرم) در ریزنمونه‌های تیمار شده با ۲ میلی‌گرم در لیتر BA همراه با ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA نیز بالا بود و در رتبه‌ی دوم قرار داشت. اهمیت حفظ توازن هورمونی برای ارتقای این صفت در نتیجه‌ی حاصل مشخص شد. ارتباط مستقیمی بین افزایش وزن کل گیاهچه و افزایش غلظت BA و NAA وجود نداشت (جدول ۲). نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان‌دهنده‌ی وجود اثرات متقابل معنی‌دار غلظت‌های مختلف NAA و BA بر طول برگ در سطح احتمال ۱ درصد ($p\leq۰/۰۱$) بود. بعد از حدود ۵۰ روز که از شروع کشت ریزنمونه گذشت، برگ‌ها در محیط کشت حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر BA همراه با ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA تشکیل شدند. تیمار حاوی غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BA همراه با ۰/۲ و ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر NAA بالاترین طول برگ (به ترتیب با ۴/۹۰ و ۴/۷۰ سانتی‌متر) را در مقایسه با تیمار شاهد با پایین‌ترین طول برگ (۲/۴۰ سانتی‌متر) القا کرد (جدول ۲ و شکل ۱). جدول ۲ مشخص می‌کند که عدم حضور یکی از این تنظیم‌کننده‌های رشد، اغلب باعث رشد کمتر برگ‌ها شده است. جداول تجزیه واریانس و مقایسه میانگین داده‌های حاصل از اثر ساده و متقابل NAA و BA بر تعداد برگ نشان از تفاوت‌های معنی‌دار بین تیمار و پاسخ دارد. بیشترین تعداد برگ (۴/۳۳ عدد در گیاه)، در محیط کشت غنی‌شده با ۱ میلی‌گرم در لیتر BA همراه با ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA و کمترین تعداد آن (۲/۲۳ عدد در گیاه) در محیط کشت غنی‌شده با ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر NAA بدون حضور BA به دست آمد (جدول ۲). این نتیجه نشان از نقش مؤثر BA در غلظت مناسب در تحریک تولید برگ دارد. غلظت‌های ۰/۲ و ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر NAA زمانی نقش مؤثری در القای تولید برگ دارند که با غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر BA همراه شوند (جدول ۲، شکل ۱).

رشد و نمو پیازچه

بعد از حدود ۸۰ روز که از شروع کشت ریزنمونه گذشت، برگ‌ها در محیط کشت حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BA همراه با ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر NAA تشکیل شدند. بالاترین وزن پیازچه (۳/۳۶ گرم) در تیمار ۱ میلی‌گرم در لیتر BA همراه با ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر NAA مشاهده شد. این وزن بیش از ۳ برابر وزن پیازچه‌های تولیدشده در تیمار شاهد بود. نتایج نشان داد که تیمارهای حاوی ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر NAA بدون BA و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BA بدون NAA همانند تیمار شاهد پیازچه‌های سبک‌وزنی را تولید کردند (جدول ۲). این نتیجه، اهمیت همکاری این دو تنظیم‌کننده‌ی رشد با یکدیگر در غلظت‌های مناسب برای افزایش وزن پیازچه را نشان می‌دهد. جدول ۱ نشان می‌دهد که اثر ساده و اثر متقابل NAA و BA بر وزن پیازچه در سطح احتمال ۱ درصد ($p\leq۰/۰۱$) معنی‌دار است. بیشترین قطر پیازچه (۱/۵۰ سانتی‌متر)، در تیمار ۱ میلی‌گرم در لیتر BA همراه با ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA مشاهده شد (جدول ۲). این قطر بیش از ۴ برابر قطر (۰/۳۶ سانتی‌متر) پیازچه‌های تولید شده در تیمار شاهد بود. تنظیم‌کننده‌های رشد اکسینی و سیتوکینینی در ترکیب مناسب با یکدیگر و با تحریک تقسیم و طویل شدن سلولی باعث افزایش اندازه‌ی پیازها می‌شوند. جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که اثر ساده و اثر متقابل NAA و BA بر قطر پیازچه در سطح احتمال ۱ درصد ($p\leq۰/۰۱$) معنی‌دار است. اثر ساده‌ی NAA روی تغییر تعداد پیازچه معنی‌دار نبود. از طرف دیگر، اثر ساده‌ی BA در سطح احتمال ۱ درصد و اثر متقابل NAA و BA در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار است (جدول ۱). بیشترین تعداد پیازچه (۸/۶۶) در تیمار ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BA همراه با ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر NAA مشاهده شد. این تعداد حدود ۳ برابر تعداد پیازچه‌های تولید شده در تیمار شاهد بود (جدول ۲، شکل ۱). ترکیب ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BA همراه با ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۱ میلی‌گرم در لیتر BA همراه با ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA در محیط کشت باعث تولید بیش از ۷ پیازچه شد. درصد بقا یا زنده‌مانی پیازچه‌ها طی ریزازدیادی، در تیمار حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BA همراه با ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA بالاترین بود. در این تیمار، ۱۰۰ درصد پیازچه‌ها زنده ماندند (جدول ۲). کمترین بقای پیازچه‌ها (۶۶/۳۳ درصد) در محیط کشت شاهد به دست آمد. استفاده از ۲ میلی‌گرم در لیتر BA در ترکیب با ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر NAA، باعث زنده‌مانی ۹۰ درصد از پیازچه‌ها شد. نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان‌دهنده‌ی وجود اثرات متقابل معنی‌دار غلظت‌های مختلف NAA و BA در سطح احتمال ۵ درصد ($p\leq۰/۰۵$) و غلظت‌های مختلف BA بر درصد بقای پیازچه‌ها در سطح احتمال ۱ درصد ($p\leq۰/۰۱$) بود.

رشد و نمو ریشه

جدول ۱ نشان می‌دهد که اثر متقابل NAA و BA بر طول ریشه در سطح احتمال ۵ درصد (p≤۰/۰۵) معنی‌دار است. همچنین اثر هر یک از این دو تنظیم کننده‌ی رشد گیاهی به تنهایی بر طول ریشه در سطح احتمال ۱ درصد (p≤۰/۰۱) معنی‌دار است. حدود ۳۵ روز بعد از شروع کشت ریزنمونه، ریشه‌ها در محیط کشت حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BA همراه با ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر NAA تشکیل شدند. جدول ۲ نشان می‌دهد که بیشترین طول ریشه (۶/۷۶ سانتی‌متر) مربوط به گیاهچه‌های رشد یافته در محیط کشت غنی‌شده با ۱ میلی‌گرم در لیتر BA همراه با ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر NAA است. طول ریشه (۵/۲۶ سانتی‌متر در گیاه) در گیاهچه‌های رشد یافته در محیط کشت غنی‌شده با ۱ میلی‌گرم در لیتر BA همراه با ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر NAA نیز مناسب تشخیص داده شد. در هر دوی این تیمارها، غلظت BA برابر با ۱ میلی‌گرم در لیتر بود. از طرف دیگر، کمترین طول ریشه (۱/۴۳ سانتی‌متر) در گیاهچه‌های رشد یافته در محیط کشت بدون BA و NAA مشاهده شد. این یافته نقش همکاری BA و NAA را در تحریک مؤثر رشد ریشه نشان داد. هیچ ارتباط مستقیمی بین افزایش یا کاهش غلظت هر دو تنظیم کننده‌ی رشد در محیط کشت با افزایش یا کاهش رشد ریشه مشاهده نشد (جدول ۲، شکل ۱). نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که اثر متقابل NAA و BA بر تعداد ریشه در سطح احتمال ۵ درصد (p≤۰/۰۵) معنی‌دار بود. BA به تنهایی اثر معنی‌داری روی تغییر تعداد ریشه نداشت و اثر NAA به تنهایی روی تغییر تعداد ریشه در سطح احتمال ۱ درصد (p≤۰/۰۱) معنی‌دار بود. جدول مقایسه میانگین صفات (جدول ۲) نشان داد که بیشترین تعداد ریشه (۵/۳۶) در تیمار ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BA در ترکیب با ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر NAA و کمترین تعداد آن (۱/۹۰) در تیمار شاهد شمارش شد. تولید تعداد کم ریشه در محیط فاقد تنظیم‌کننده‌های رشد، حاکی از ضرورت حضور حداقل یکی از این دو تنظیم‌کننده در محیط کشت برای تحریک تولید ریشه است. نتایج نشان داد که تعداد ریشه‌ها در همه تیمارهای فاقد NAA کم بود (جدول ۲، شکل ۱). گیاهان باززایی‌شده طی سازگاری در گلخانه و کاشته‌شده در بسترهای حاوی پیت‌ماس، کوکوپیت و پرلیت به نسبت مساوی از نظر ریخت‌شناسی مشابه با گیاهان مادری بودند و علائمی از تغییر فنوتیپی قابل مشاهده را نشان ندادند. حدود ۹۰ درصد از گیاهان سازگارشده در شرایط برون شیشه‌ای، زنده ماندند.

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی BA و NAA بر برخی صفات سوسن شرقی دورگ (*Lilium* oriental hybrid 'Casablanca') در شرایط درون‌شیشه‌ای

Table 1- ANOVA for the effect of different concentrations of BA and NAA on some traits of eastern lily hybrid (*Lilium* oriental hybrid 'Casablanca') in *in vitro* condition

منابع تغییرات s.o.v.	درجه آزادی df	تعداد ریشه Root number	طول ریشه Root length	درصد زنده‌مانی Survival percentage	تعداد پیازچه Bulblet number	قطر پیازچه Bulblet diameter	وزن پیازچه Bulblet weight	تعداد برگ Leaf number	طول برگ Leaf length	وزن تر کل گیاهچه Total fresh weight of plantlet
تکرار Replicate	2	0.0308ns	0.181ns	100ns	0.333ns	0.0202ns	0.0327ns	0.0208ns	0.316ns	0.0098ns
۶-بنزیل آدنین BA	3	0.276ns	2.34**	483**	13.72**	0.173**	1.926**	2.25**	4.29**	5.807**
α-نفتالن استیک اسید NAA	3	8.559**	21.85**	188ns	3.38ns	0.265**	2.337**	0.527*	1.002**	3.65**
BA × NAA	9	0.744*	1.43*	209*	6.37*	0.226**	0.536*	0.546*	0.684**	1.371*
خطا Error	39	0.405	0.501	80.01	2.77	0.032	0.191	0.2208	0.197	0.458
ضریب تغییرات CV (%)	-	19.21	19.3	11.54	31.2	25.8	26.9	15.40	13.70	17.80

** معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد، * معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد، ns عدم معنی‌داری

** and *: significant at 1 and 5% of probability level, respectively; ns: No-significant

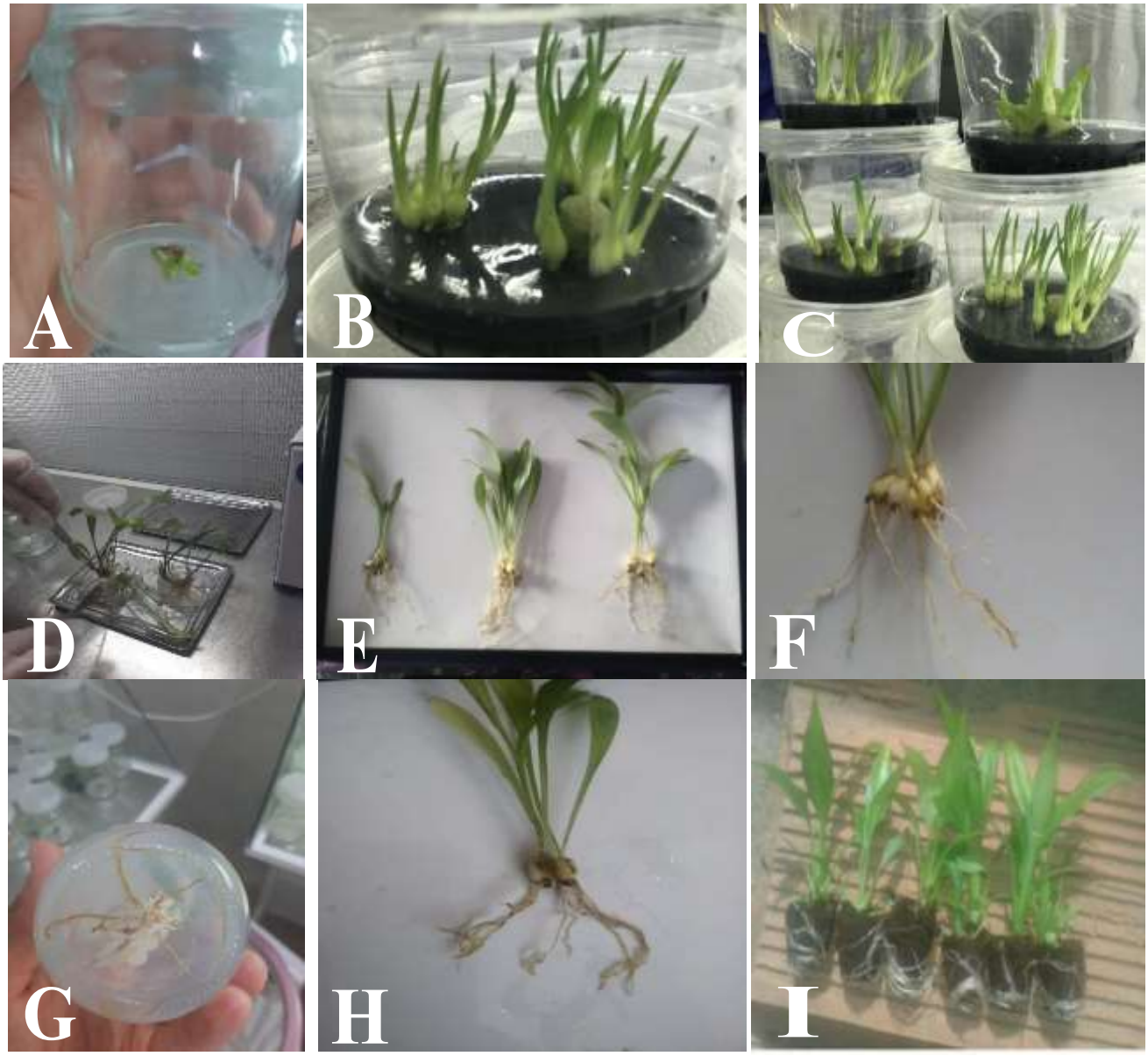
جدول ۲- اثر متقابل غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی BA × NAA روی برخی صفات سوسن شرقی دورگ (*Lilium* oriental hybrid 'Casablanca') در شرایط درون‌شیشه‌ای

Table 2- The interaction effect of different concentrations of BA ×NAA on some traits of eastern lily hybrid (*Lilium* oriental hybrid 'Casablanca') in *in vitro* condition

٦- بنزیل آدنین BA (mg l^{-1})	α-نفتالن استیک اسید NAA (mg l^{-1})	تعداد ریشه Root number	طول ریشه Root length (cm)	درصد زنده‌مانی Survival percentage	تعداد پیازچه Bulblet number	قطر پیازچه Bulblet diameter (cm)	وزن پیازچه Bulblet weight (g)	تعداد برگ	طول برگ Leaf length (cm)	وزن تر کل گیاهچه Total fresh weight of plantlet (g)
0	0	1.90g	1.43d	63.33e	4.00c-e	0.36e	0.90e	3.00b-d	2.40de	1.60e
0	0.1	3.10c-f	3.70c	70.00c-e	4.33c-e	0.43de	1.30de	2.66cd	2.63c-e	2.86d
0	0.2	3.76b-d	3.73c	70.00c-e	4.66b-e	0.70cd	1.66b-d	3.00b-d	2.66c-e	3.21cd
0	0.4	3.63 b-d	4.60bc	83.33bc	3.33de	0.70cd	0.83e	2.23d	3.73b-d	3.73b-d
0.5	0	2.30e-g	1.80d	83.33bc	5.00b-e	0.66cde	0.80e	2.66cd	3.26bc	2.82d
0.5	0.1	3.23b-e	3.60c	100.00a	4.66b-e	0.80bc	1.70b-d	3.00b-d	3.06b-e	4.38b
0.5	0.2	3.06d-f	4.10bc	73.33c-e	7.33ab	1.06b	2.16bc	3.00b-d	4.90a	3.94b-d
0.5	0.4	5.36a	4.00c	80.0b-d	8.66a	0.66cde	1.70b-d	3.33bc	4.70a	3.62b-d
1	0	2.06fg	1.66d	70.00c-e	5.66b-e	0.56cde	1.66b-d	3.00b-d	2.93b-e	3.63b-d
1	0.1	3.23b-e	3.50c	76.66c-e	7.33ab	1.50a	1.30de	4.33a	3.60b	3.63b-d
1	0.2	3.66b-d	5.26b	76.66c-e	4.33c-e	0.60cde	3.36a	3.66ab	3.50b	5.84a
1	0.4	4.20b	6.76a	66.66de	6.66a-c	0.50cde	2.26b	3.66ab	3.26bc	4.66b
2	0	2.90d-g	2.30d	83.3bc	6.00a-d	0.43de	1.43de	2.34d	2.93b-e	4.03bc
2	0.1	3.03d-f	3.80c	80.00bcd	3.00e	0.70cd	1.46c-e	2.33d	3.03b-e	4.70b
2	0.2	3.43b-d	3.63c	73.33c-e	4.66b-e	0.66cde	1.73b-d	3.33bc	3.20b-d	4.36b
2	0.4	4.13bc	4.53bc	90.00ab	5.66b-e	0.80bc	1.66b-d	3.00b-d	3.00b-e	3.58b-d

حروف مشترک در هر ستون، عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد توسط آزمون توکی را نشان می‌دهد.

Means followed by the same letter within each column shows no significant differences at 5% of probability level using Tukey's test.



شکل ۱- مراحل ریزازدیادی در شرایط درون‌شیشه‌ای سوسن شرقی دورگ (*Lilium* oriental hybrid 'Casablanca'). A) ریزنمونه‌ی فلس پیاز کشت شده در محیط حاوی BA و NAA برای تشکیل پیازچه؛ B) تشکیل و رشد پیازچه‌ها در محیط کشت دارای زغال فعال و غنی شده با BA و NAA ؛ C) اثر غلظت‌های مختلف BA و NAA روی رشد و تکثیر پیازچه‌ها، ردیف بالا، سمت چپ: محیط غنی شده با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BA همراه با ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر NAA، ردیف بالا، سمت راست: محیط حاوی ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر NAA، ردیف پایین، سمت چپ: محیط غنی شده با ۱ میلی‌گرم در لیتر BA همراه با ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA، ردیف پایین، سمت راست: محیط غنی شده با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BA همراه با ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر NAA که بیشترین تعداد پیازچه را تحریک کرده است؛ D) مرحله‌ی تکثیر با جداکردن گیاهچه‌های حاصل از رشد پیازچه‌ها؛ E) اثر غلظت‌های مختلف BA و NAA روی تعداد برگ و تعداد ریشه، چپ) شاهد، وسط) برگ‌ها و ریشه‌های تولید شده در محیط کشت حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر BA همراه با ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA و راست) برگ‌ها و ریشه‌های تولید شده در محیط کشت حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BA همراه با ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر NAA؛ F) پیازچه‌های تولید شده در محیط غنی شده با ۱ میلی‌گرم در لیتر BA همراه با ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA؛ G) تعداد ریشه‌های تولید شده در محیط کشت حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر BA همراه با ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA؛ H) گیاهچه‌ی آماده برای سازگاری؛ و I) گیاهچه‌های سازگار شده در گلدان‌های حاوی پیت ماس، کوکوپیت و پرلیت به نسبت مساوی.

Figure 1- Micropropagtion process in *in vitro* condition of eastern lily hybrid (*Lilium* oriental hybrid 'Casablanca'). A) Bulb scale explant cultured in medium containing BA and NAA for bulblet formation; B) formation and growth of bulblets in culture medium with activated charcoal and enriched with BA and NAA; C) effect of different concentrations of BA and NAA on growth and proliferation of bulblets. Up row, left: medium enriched by 0.5 mg.l^{-1} BA together with 0.2 mg.l^{-1} NAA, up row, right: medium containing 0.4 mg.l^{-1} NAA, down row, left: medium enriched by 1 mg l^{-1} BA together with 0.1 mg.l^{-1} NAA, Down row, right: medium enriched by 0.5 mg.l^{-1} BA together with 0.4 mg.l^{-1} NAA that has been induced maximum number of bulblet; D) multiplication phase with isolation of plantlets obtained bulblets growth; E) effect of different concentrations of BA and NAA on the number of leaf and root, left: control, middle: leaves and roots produced in medium containing 0.5 mg.l^{-1} BA together with 0.4 mg.l^{-1} NAA; F) Produced bulblets in medium enriched by 1 mg l^{-1} BA together with 0.1 mg l^{-1} NAA; G) root number produced in medium containing 1 mg.l^{-1} BA together with 0.1 mg.l^{-1} NAA; H) plantlet ready for acclimatization; and I) Acclimatized plantlets in pots containing peat moss, cocopeat and perlite in identical ratio

بحث

پژوهش‌های کاربردی به ویژه در شرایط درون‌شیشه‌ای باید به سمت بهینه‌سازی سرعت تکثیر، افزایش کمیت و کیفیت گیاهان تولیدی و معرفی گونه‌ها و ارقام جدید سوق داده شود. استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی در انواع و غلظت‌های مناسب و به‌کارگیری ریزنمونه‌های کارآمد با بازدهی بالا از مهم‌ترین عوامل مؤثر در جهت مرتفع کردن این چالش‌ها هستند. نقش مؤثر حضور همزمان هر دوی اکسین و سیتوکینین در محیط کشت، در اندام‌زایی بهینه در مطالعه‌ی حاضر نشان داده شد. اکسین در تحریک تولید پیازچه و رشد بخش هوایی سوسن شرقی دورگ کازابلانکا مؤثر بود و حضور آن در کنار سیتوکینین برای القای برگ ضروری است. برخی پژوهش‌ها نتایج کاملاً مشابهی را گزارش کرده‌اند (Paek and Murthy, 2002; Youssef *et al.*, 2019; Azadi and Khush-khui, 2007). شرایط مناسب برای به‌دست آوردن تعداد زیادی گیاهچه‌ی سوسن شرقی در شرایط درون‌شیشه‌ای، حضور تنظیم کننده‌های رشد گیاهی است. در *Lilium orientalis* cv. Starfighter، بیشترین تعداد سرشاخه، برگ و فلس پیاز در محیط کشت حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر BA همراه با ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر NAA به دست آمد (Youssef *et al.*, 2019). بالاترین باززایی پیازچه (۹۴ درصد) و تعداد شاخه (۲۲) در *Lilium longiflorum* در محیط حاوی ۲ میلی‌گرم در لیتر BA همراه با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA به دست آمد (Mir *et al.*, 2012). بالاترین باززایی پیازچه (۹۳/۳۰ درصد) و بیشترین تعداد برگ (۳/۸۳) در *Lilium davidii* cv. Unicolor، در محیط کشت تکمیل شده با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر تیدیازورون (TDZ) همراه با ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA به دست آمد (Ling *et al.*, 2009). مطالعه روی سوسن دورگ *Lilium* oriental 'Casablanca' نشان داد که ریزنمونه‌ی فلس پیاز در محیط کشت حاوی ۲/۲ میکرومولار BA بیشترین تعداد برگچه را تولید کرد (Han *et al.*, 2004). استفاده از قطعات کوچک برگچه به عنوان ریزنمونه و کشت در محیط حاوی هر دوی BA و IAA همراه با زغال فعال باعث تولید بیشترین شاخه شد (Han *et al.*, 2004). همانند نتایج به دست آمده در پژوهش ما، در این تحقیق نیز رشد و زنده‌مانی پیازچه‌ها در گلخانه بالا بود. عموماً، وزن و اندازه‌ی پیازچه دو عامل مهم تأثیرگذار روی بقای گیاهچه‌ها طی سازگاری هستند (Wu *et al.*, 2019). پیازچه‌های بزرگ‌تر تعداد بیشتری برگچه تولید می‌کنند. پیشنهاد شده است که پیازچه‌های سنگین‌تر از یک گرم، رفتار رشدی سریع‌تری نسبت به پیازچه‌های سبک‌تر بعد از کشت کردن در شرایط طبیعی دارند (Langens-Gerrits and De Klerk, 1999). تفاوت در وزن، تعداد و اندازه‌ی پیازچه‌های تولیدی در شرایط کشت درون‌شیشه‌ای، به نوع، غلظت و ترکیب تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی مورد استفاده بستگی دارد (Wu *et al.*, 2016a; Wu *et al.*, 2019). در پژوهش ما، سنگین‌ترین، قطورترین و بیشترین پیازچه با حضور هر دو تنظیم‌کننده‌ی رشد BA و NAA در محیط کشت تولید شد. نتایج مشابه توسط برخی محققان با مطالعه روی گونه‌ها و ارقام مختلف سوسن گزارش شد. بالاترین درصد تشکیل پیازچه (۸۳/۳۰ درصد) در سوسن چلچراغ (*Lilium ledebourii* (Baker) Bioss.) روی محیط غنی‌شده با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BA همراه با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA مشاهده شد (Azadi and Khush-khui, 2007). بیشترین تعداد پیازچه (۵/۴۱) در سوسن چلچراغ روی محیط غنی‌شده با ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر BA همراه با ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA به دست آمد. نتایج مشابه در *Lilium concolor* گزارش شد (Jeong, 1996). افزایش NAA در محیط کشت *Lilium concolor*، تعداد پیازچه‌ها را کاهش داد، در حالی که در پژوهش ما بیشترین تعداد پیازچه در محیط کشت حاوی بالاترین غلظت به کار رفته NAA (۰/۴ میلی‌گرم در لیتر) تولید شد. مطالعه روی *Lilium oxypetalum*، یک گونه سوسن بومی ارتفاعات هیمالیا، نشان داد که بالاترین باززایی پیازچه‌ها در محیط کشت غنی‌شده با ۲ میکرومولار BA همراه با ۰/۱ میکرومولار NAA به دست آمد (Joshi and Dhar, 2009). درصد زنده‌مانی گیاهچه‌های حاصل از رشد و نمو پیازچه‌ها طی سازگاری در شرایط برون‌شیشه‌ای بعد از ۶ هفته، ۶۶/۷ درصد بود (Joshi and Dhar, 2009). هورمون‌های درون‌زا و برون‌زا، عوامل ژنتیکی، نوع ریزنمونه‌ی مورد استفاده و شرایط محیطی از مهم‌ترین عوامل تعیین کننده‌ی تولید پیازچه و زنده‌مانی آنها هستند و علت تشابهات و تفاوت‌ها را توجیه می‌کنند.

بالاترین درصد ریشه‌زایی (۸۷/۳۰ درصد) در سوسن چلچراغ روی محیط غنی‌شده با ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر BA همراه با ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA به دست آمد (Azadi and Khush-khui, 2007). بیشترین تعداد ریشه (۲/۸۹) نیز در همین محیط کشت مشاهده شد. در پژوهش حاضر، تولید بیشترین تعداد ریشه با یافته‌های این پژوهش همسو است. همانند نتایج به دست آمده در این پژوهش، عدم حضور هورمون‌های برون‌زا در محیط کشت ریشه‌زایی *Lilium nepalense* باعث عدم افزایش تولید ریشه شد (Wawrosch *et al.*, 2001). در *Lilium longiflorum* افزودن NAA، تعداد ریشه‌ها را نسبت به محیط فاقد هورمون افزایش داد (Nhut, 1998). در *Lilium longiflorum*، بالاترین درصد ریشه‌زایی (۹۳ درصد) و تعداد ریشه (۱۹) در محیط کشت حاوی ۲ میلی‌گرم در لیتر NAA به دست آمد (Mir *et al.*, 2012). نوع و غلظت بهینه‌ی تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی در محیط کشت، برای ریزازدیادی مناسب در گونه‌های مختلف متفاوت است. از دلایل مهم این تفاوت می‌توان به تفاوت ژنتیکی (نوع گونه)، تفاوت در میزان تولید درون‌زای این ترکیبات و اثر متقابل

آنها با یکدیگر اشاره کرد. نسبت مناسب ترکیب هورمونی اکسین و سیتوکینین در محیط کشت، برای القای تقسیم سلولی، تمایز سلولی، اندام‌زایی و در نهایت برای دستیابی به گیاه کامل موثر است. تولید ریشه‌ی با کمیت و کیفیت مناسب، بقای گیاهچه‌های حاصل از رشد ریزنمونه‌های کشت‌شده در شرایط درون‌شیشه‌ای و گیاهان سازگارشده را به دنبال دارد.

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج حاصل از پژوهش حاضر، حضور هر دو اکسین NAA و سیتوکینین BA برای ریزازدیادی (تولید پیازچه، برگچه و ریشه) بهینه‌ی سوسن شرقی دورگ کازابلانکا (*Lilium* oriental hybrid ‘Casablanca’) لازم است. تولید پیازچه از کشت فلس پیاز می‌تواند با روش اندام‌زایی مستقیم به دست آید. بیشترین تعداد پیازچه و ریشه، همچنین بیشترین تعداد برگ، به ترتیب در محیط کشت حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BA همراه با ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۱ میلی‌گرم در لیتر BA همراه با ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA به‌دست آمد. تولید انبوه و باززایی سریع گیاهان یکنواخت و یک‌شکل سوسن شرقی به منظور اصلاح و کاربرد تجاری سوسن‌ها ضروری است.

سپاسگزاری

لازم است از مساعدت دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت سپاسگزاری نماییم. همچنین، از موسسه‌ی تحقیقات بیوتکنولوژی و علوم کشاورزی هیرکان (شرکت هیرکان آزما فناور) آمل و آقای دکتر ناصر نگهدار تشکر می‌کنیم.

منابع

1. Azadi P., and Khush-khui M. 2007. Micropropagation of *Lilium ledebourii* (Baker) Boiss as affected by plant growth regulator, sucrose concentration, harvesting season and cold treatments. Electronic Journal of Biotechnology 10(4): 582–591.
2. Bacchetta L., Remotti P.C., Bernardini C., and Saccardo F. 2003. Adventitious shoot regeneration from leaf explants and stem nodes of *Lilium*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 74(1): 37–44.
3. Bahr L.R., and Compton M.E. 2004. Competence for *in vitro* bulblet regeneration among eight *Lilium* genotypes. Horticulture Science 39: 127–129.
4. Chang C., Chen C.T., Tsai Y.C., and Chang W.C. 2000. A tissue culture protocol for propagation of a rare plant, *Lilium speciosum* Thunb. var. glorisoides Baker. Botanical Bulletin of Academia Sinica 41(2): 139–142.
5. Han B.H., Suh E.J., Yae B.W., and Yu H.J. 2004. Micropropagation of *Lilium longiflorum* ‘Geogia’ by using bioreactor. Korean Journal of Plant Biotechnology 31(3): 197–201. (In Chinese with English abstract)
6. Han B.H., Yae B.W., Yu H.J., and Peak K.Y. 2004. Improvement of *in vitro* micropropagation of *Lilium* oriental hybrid ‘Casablanca’ by the formation of shoots with abnormally swollen basal plates. Scientia Horticulturae 103(3): 351–359.
7. Jeong J.H. 1996. *In vitro* propagation of bulb scale section of several Korean native lilies. Acta Horticulturae 414: 269–276.
8. Joshi S.K., and Dhar U. 2009. *In vitro* propagation from axenic explants of *Lilium oxypetalum* (D. Don) Baker, an endemic bulbous plant of high altitude Himalaya. Acta Physiologia Plantarum 31: 833.
9. Kaviani B. 2020. *Conservation of ornamental plants in danger of extinction by biotechnological methods*. Publications of Islamic Azad University, Rasht Branch, Iran. p. 187.
10. Kumar S., Chaudhary V., and Kanwar J.K. 2008. *In vitro* propagation of oriental hybrid lily from root explant. Advances in Horticultural Science 22: 63–65.
11. Kumar S., Kanwar J.K., and Sharma D.R. 2006. *In vitro* propagation of *Lilium*. Advances in Horticultural Science 20: 181–188.
12. Langens-Gerrits M.M., and De Klerk G.J.M. 1999. Micropropagation of flower bulbs. Plant Cell Culture Protocols, Springer, New York, pp 141–147.
13. Langens-Gerrits M.M., De Klerk G.J.M., and Croes A. 2003. Phase change in lily bulblets regenerated *in vitro*. Physiologia Plantarum 119: 590–597.
14. Lian M.L., Chakrabarty D., and Paek K.Y. 2002a. Growth and uptake of sucrose and mineral ions by bulblets of *Lilium* oriental hybrid ‘Casablanca’ during bioreactor culture. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology 77(3): 253–257.
15. Lian M.L., Chakarabarty D., and Paek K.Y. 2003. Bulblet formation from bulbscale segments of *Lilium* using bioreactor system. Biologia Plantarum 46: 199–202.
16. Lian M.L., Chakarabarty D., and Paek K.Y. 2003a. Growth of *Lilium* oriental hybrid ‘Casablanca’ bulblet using bioreactor culture. Scientia Horticulturae 97: 41–48.
17. Ling S.X., Feng Wang M., and Dong L. 2009. Plant regeneration from *in vitro* cultured leaves of Lanzhou lily

(*Lilium davidii* var. unicolor) Scientia Horticulturae 119: 458–61.
18. Mir J.I., Ahmed N., Itoo H., Sheikh M.A., Rashid R., and Wani S.H. 2012. *In vitro* propagation of Lilium (*Lilium longiflorum*). Indian Journal of Agricultural Sciences 82(5): 455–458.
19. Muhammad N., Ishrat N., Syed M.S.N., and Tariq M. 2013. Standardization of tissue culture conditions and estimation of free scavenging activity in *Viola odorata* L. Pakistan Journal of Botany 45(1): 197–202.
20. Murashige T., and Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum 15: 473–479.
21. Nhut D.T. 1998. Micropropagation of lily (*Lilium longiflorum*) via *in vitro* stem node and pseudo-bulblet culture. Plant Cell Reports 17(12): 913–916.
22. Nhut D.T. 2003. The control of *in vitro* direct main stem formation of *Lilium longiflorum* derived from receptacle culture and rapid propagation by using *in vitro* stem nodes. Plant Growth Regulation 40(2): 179–184.
23. Nhut D.T., Huong N.T.D., Le B.V., Da Silva J.T., Fukai S., and Tanaka M. 2002. The changes in shoot regeneration potential of protocorm-like bodies derived from *Lilium Iongiflorum* young stem explants exposed to medium volume, pH, light intensity and sucrose concentration pretreatment. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology 77(1): 79–82.
24. Nhut D.T., Le B.V., Fukai S., Tanaka M., and Thanh V.K.T. 2001. Effects of activated charcoal, explant size, explant position and sucrose concentration on plant and shoot regeneration of *Lilium longiflorum* via young stem culture. Plant Growth Regulation 33 (1): 59–65.
25. Paek K.Y., and Murthy H.N., 2002. High frequency of bulblet regeneration from bulb scale sections of *Fritillaria thunbergii*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 68(3): 247–252.
26. Pelkonen V. 2005. Biotechnological approaches in lily (*Lilium*) production. University of Oulu, Oulu. Available from: http://herkules.oulu.fi/isbn9514276590/. ISBN 951-42-7659-0 (PDF). ISSN 0355-3191 http://herkules.oulu.fi/issn03553191.
27. Podwyszyńska M. 2012. The mechanisms of in vitro storage organ formation in ornamental geophytes. Floriculture and Ornamental Biotechnology 6: 9–23.
28. Robinson K.E., and Firoozabady E. 1993. Transformation of floriculture crops. Scientia Horticulturae 55: 83–99.
29. Roh M.S. 2011. Controlled flowering in the genus *Lilium*-review of the past achievements and the future direction of research. Acta Horticulturae 900: 189–203.
30. Taha S.L., Sayed S.S., Farahat M.M., and El-Sayed I.M. 2018. *In vitro* culture and bulblets induction of Asiatic hybrid Lily 'red alert'. Journal of Biological Science 18: 84–91.
31. Varshney A., Dhawan V., Srivastava P.S. 2000. A protocol for *in vitro* mass propagation of Asiatic hybrids of lily through liquid stationary culture. In Vitro Cellular and Developmental Biology Plant 36(5): 383–391.
32. Wawrosch C., Malla P.R., and Kopp B. 2001. Clonal propagation of *Lilium nepalense* D. Don, a threatened medicinal plant of Nepal. Plant Cell Reports 20(4): 285–288.
33. Wu Y., Li Y., Ma Y.D., Zhang L., Ren Z.M., and Xia Y.P. 2016a. Hormone and antioxidant response of *Lilium* Oriental hybrid 'Sorbonne' bulblets to humic acid treatments *in vitro*. Journal of Horticultural Science and Biotechnology 92: 1–13.
34. Wu Y., Sun M.Y., Zhang J.P., Zhang L., Ren Z.M., Min R.H., Wang X.Y., Xia Y.P. 2019. Differential effects of paclobutrazol on the bulblet growth of Oriental lily cultured in vitro: growth behavior, carbohydrate metabolism, and antioxidant capacity. Journal of Plant Growth Regulation 38: 359–372.
35. Younis A., Hwang Y.J., and Lim K.B. 2014. Classical vs. modern genetic and breeding approaches for lily (*Lilium*) crop improvement: a review. Flower Research Journal 22: 39–47.
36. Youssef N.M., Shima A., Shaaba, Z.F.G., and Lobna S.T. 2019. *In vitro* bulb formation of direct and indirect regeneration of *Lilium orientalis* cv. "Starfighter" plants. Bulletin of the National Research Centre 43: 211.

Journal of Horticultural Science
https:// jhs.um.ac.ir

Research Article
Vol. 36, No. 1, Spring 2022, p. 71-85

The Role of Melatonin on Postharvest Properties of Sweet Cherry Fruit cv. Siah Mashhad during Storage

B. Ghorbani[1]*, **R. Najafzadeh**[2]

Received: 05-01-2021
Revised: 15-08-2021
Accepted: 24-11-2021
Available Online: 20-06-2022

How to cite this article:
Ghorbani B., and Najafzadeh R. 2022. The Role of Melatonin on Postharvest Properties of Sweet Cherry Fruit cv. Siah Mashhad during Storage. Journal of Horticultural Science 36(1): 71-85. (In Persian with English abstract)
DOI: 10.22067/JHS.2021.67437.1001

Introduction

Cherry fruit has a high nutritional value and because of its favorable taste, its attractive appearance is of great importance. Iran is the origin of many horticultural products, especially cherries. The quality and quantity of the Iranian cherry crop are much more suitable in comparison with other producing countries due to suitable climatic conditions and significant areas under cultivation. This fruit has a very short shelf life due to its susceptibility to transport damage. After harvest, the cherry fruit decays quickly and in some cases, due to the time of transfer and marketing, does not reach consumers with good quality. Therefore, the use of natural compounds to increase shelf life and maintain its quality seems necessary inlcuding lower moisture, and perishability. On the other hand, storage of products involves a series of biochemical changes that take place, which is accompanied by softening of the fruit, destruction of the cell wall, and reduction of the external and internal quality of the products. Therefore, the use of appropriate compounds to increase durability and maintain its quality seems necessary. Phytohormonal treatments such as melatonin increase the cold resistance of fruits during storage and reduce the development of mechanical damage in the refrigerator during fruit storage. Melatonins have an amphiphilic indole ring structure, through which they can easily move out of the cell and play a role in the structure of the cell wall or membrane. Besides, melatonin is structurally similar to auxin and has similar effects, helping to maintain cell wall structure under stress and reducing the denaturation of cell wall proteins. Melatonin is also known as a biostimulant. These biostimulants in plants affect the production of secondary metabolites, biosynthesis of various phytohormones, facilitate plant uptake of nutrients, stimulate growth, and increase product quality and quantity. Melatonin, in interaction with other signaling agents, increases fruit metabolism and induces stress resistance.

Materials and Methods

In the present study, cherry fruits were harvested from the commercial garden at full maturity and after washing with distilled water with zero melatonin (control), 50, 100, 200 micromolar were treated by immersion for 5 minutes and Store at 1.5 with a relative humidity of 85% for 35 days. Parameters such as weight loss, titratable acidity, organic acids, soluble solids, antioxidants (DPPH), phenolic compounds, anthocyanin content, peroxidase, and ascorbate peroxidase activity were examined per week.

Results and Discussion

The results indicated that fruits treated with 200 µM melatonin showed less weight loss than other treatments and controls, and melatonin prevented fruit water loss, as well as of phenolic compounds, titratable acidity, soluble solids. The activity of peroxidase and ascorbate peroxidase enzymes have all increased. These compounds preserve the fruits during storage and increase the oxidation resistance. Melatonin coating on cherry fruit and can protect cells from stress by raising antioxidant levels. Consumption of edible coatings on horticultural products such as fruits increases durability and marketability. Edible coatings reduce fruit rot and prevent microbial growth on their surface. These coatings have a positive effect on physical properties and

1- Ph.D. in Horticulture, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Urmia University
(*- Corresponding Author Email: ghorbani.bahareh@ymail.com)
2- Assistant Professor of Medicinal Plants, Shahid Bakeri Miandoab Higher Education Center, Urmia University

reduce physiological activity. Oral coatings better preserve organic acids by changing the internal atmosphere and slowing down the respiration of the fruit.

Conclusion

The use of exogenous compounds or growth regulators has in many cases been effective in reducing the effects of environmental stresses. These results show that the combination of melatonin has high antioxidant properties and can act as a protective compound and inhibit free radicals. Besides, it acts as a signaling molecule at the cellular level and manages antioxidant activity, thus preventing membrane damage and lipid peroxidation of the membrane. Melatonin also increases plant tolerance to environmental stresses and follows this mechanism by regulating gene expression in various horticultural crops. The use of melatonin improves the process of coping with oxidative stress by further regulating the biosynthesis of anthocyanins and the antioxidant-encoding gene.

Decomposition of cell wall compounds may increase total soluble solids, melatonin reduces the process of wall destruction, and preserves the appearance of the fruit. Increasing the amount of soluble solids increases the total antioxidant, phenolic and increases the activity of antioxidant enzymes. Melatonin is also at the forefront of stress management, and other antioxidants act as support after melatonin. Melatonin can prevent further stress damage by activating the plant signaling pathway.

Keywords: Antioxidant, Anthocyanins, Marketability, Oral coating, Phenol

نشریه علوم باغبانی
https:// jhs.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۶، شماره ۱، بهار ۱۴۰۱، ص ۸۵-۷۱

نقش ملاتونین بر خصوصیات پس از برداشت میوه گیلاس رقم 'سیاه مشهد' طی دوره انبارمانی

بهاره قربانی[۱*]- رقیه نجف زاده[۲]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۰/۱۶
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۹/۰۳

چکیده

میوه گیلاس دارای ارزش غذایی بالایی بوده و به دلیل طعم و مزه مطلوب، و ظاهر جذاب از اهمیت بالایی برخوردار است. این میوه به دلیل حساس بودن به صدمات حمل و نقل، کاهش رطوبت و فساد پذیر بودن عمر انبارمانی بسیار کوتاهی دارد. میوه گیلاس پس از برداشت، به‌سرعت دچار زوال شده و در برخی موارد به‌دلیل مدت زمان انتقال و بازاریابی، با کیفیت مناسب به‌دست مصرف‌کنندگان نمی‌رسد. بنابراین استفاده از ترکیبات طبیعی جهت افزایش ماندگاری و حفظ کیفیت آن ضروری به نظر می‌رسد. در پژوهش حاضر تیمار غوطه وری ملاتونین به مدت ۱۵ دقیقه در چهار سطح صفر (شاهد)، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار بر روی میوه گیلاس رقم 'سیاه مشهد' اعمال شد و میوه‌ها در سردخانه در دمای ۱±۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۸۵ درصد به مدت ۳۵ روز نگهداری شدند. پارامترهایی مانند کاهش‌وزن، اسیدیته قابل تیتراسیون، اسیدهای آلی، مواد جامد محلول، آنتی‌اکسیدان (DPPH)، ترکیبات فنلی، محتوای آنتوسیانین، فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز به مدت پنج هفته بررسی شدند. نتایج نشان داد میوه‌های تیمار شده با ملاتونین در غلظت۲۰۰ میکرومولار نسبت به سایر تیمارها و شاهد، میزان (۴۰ درصد) کاهش وزن کمتری داشتند و همچنین در این میوه‌ها میزان ترکیبات فنلی (۲۵ میلی‌گرم بر صد گرم وزن تر اسید گالیک)، مواد جامد محلول (۴ درصد بریکس) و فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز (۲۰ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) افزایش یافتند. ترکیب ملاتونین خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالایی داشته و قادر است مانند یک ترکیب محافظت کننده عمل کرده و رادیکال‌های آزاد را مهار نماید. در این پژوهش دیده شد غلظت۲۰۰ میکرومولار توانسته است عمر انبارداری میوه گیلاس را با حفظ خواص آنتی‌اکسیدانی بالا برده و کیفیت را بهبود بخشد.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، آنتوسیانین، بازارپسندی، پوشش خوراکی، فنل

مقدمه

گیلاس (*Prunus avium* L.) یکی از محصولات مهم و تجاری باغبانی در سطح دنیا می‌باشد. میوه گیلاس یک منبع عالی برای عناصر معدنی، ویتامین‌ها، آنتی‌اکسیدان‌ها و مواد آلی بوده و یکی از بهترین میوه‌های خوراکی برای سبد غذایی می‌باشد. اخیراً تحقیقات نشان داده که گنجاندن گیلاس در برنامه غذایی می‌تواند خطر ابتلا به بیماری‌های دیابت، قلبی عروقی، فشار خون بالا و سرطان را کاهش دهد (Petriccione *et al.*, 2014). گیلاس از جمله میوه‌هایی است که در اوایل فصل تابستان برداشت شده و از ارزش اقتصادی بالایی برخوردار است. از جمله شاخص‌های بازارپسند این میوه رنگ پوست آن است که در اثر تجمع آنتوسیانین و افزایش نسبت TA/TSS در موقع رسیدن تشکیل می‌شود (Martinez-Romero *et al.*, 2005). از دلایل اصلی کاهش بازارپسندی میوه گیلاس در طی انبارداری می‌توان به کاهش وزن، تغییرات رنگ و نرمی گوشت میوه، فرورفتگی سطحی، قهوه‌ای شدن و کاهش اسیدیته میوه اشاره نمود (Bernalte *et al.*, 2003). امروزه به‌دلیل مطالعات گسترده پیرامون مدیریت محصولات باغبانی تمایل به استفاده از روش‌هایی که بتوانند عمر انبارمانی، کیفیت و پتانسیل آنتی‌اکسیدانی را حفظ کنند قابل توجه است. یکی از راهکارهایی که به افزایش ماندگاری محصول کمک می‌کند استفاده از تنظیم کننده‌های رشد و پوشش‌های خوراکی

۱- دانش آموخته دکتری باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه
۲- استادیار گروه گیاهان دارویی، مرکز آموزش عالی شهید باکری میاندوآب، دانشگاه ارومیه
(*- نویسنده مسئول: Email: ghorbani.bahareh@ymail.com)
DOI: 10.22067/JHS.2021.67437.1001

می‌باشد. پوشش‌های خوراکی به علت هزینه کم و حلال بودن در آب مورد توجه قرار می‌گیرند (Dahital *et al.*, 2018). این پوشش‌های خوراکی باعث کاهش میزان پوسیدگی میوه‌ها، بهبود ویژگی‌های ظاهری، جلوگیری از رشد میکروبی در سطح میوه‌ها می‌شود (Mohammadi *et al.*, 2016). پوشش‌های خوراکی با ایجاد یک مانع نیمه تراوا به بخار آب، اکسیژن و دی اکسیدکربن بین محصولات و اتمسفر اطراف آن ها، باعث افزایش ماندگاری محصول می‌شوند (Ghorbani *et al.*, 2018). ملاتونین یا N– استیل متوکسی تریپتامین، دارای وزن مولکولی پایین بوده و یک ساختار مبتنی بر ایندول دارد. این ترکیب علاوه بر جانوران در بسیاری از گیاهان مختلف شناسایی شده است و طیف وسیعی از نقش‌های فیزیولوژیکی، بیوسنتزی و مولکولی را به عهده دارد (Tan *et al.*, 2012). ترکیب ملاتونین به عنوان یک آنتی‌اکسیدان در بسیاری از عملکردهای حیاتی سلول نقش دارد و نقش پیام‌رسان را ایفا می‌کند (Reiter *et al.*, 2013). همچنین ترکیب فوق می‌تواند از گیاهان در برابر آسیب‌های ناشی از تنش‌های مختلف زیستی و غیرزیستی از جمله خشکسالی (Li *et al.*, 2013)، فلزات سنگین (Tan *et al.*, 2007)، شوری (Li *et al.*, 2012)، تنش گرمایی (Baghurst and Coghill, 2006) و سرمازدگی (Lei *et al.*, 2004) محافظت نماید. ملاتونین از طریق القای اکسین و تولید اندام هوایی میزان سیتوکینین را نیز تنظیم می‌کند، به همین دلیل از ملاتونین به عنوان تنظیم‌کننده رشد گیاهی نام می‌برند (Arnao, 2014). علاوه بر این تحقیقات نشان داد ملاتونین سبب القای بیان ژن‌های مرتبط با سرما می‌گردد (Shi and Chan, 2014) و می‌تواند موجب محافظت از پروتئین از طریق القای پروتئین‌های شوک حرارتی گردد و از دناتوره شدن (از دست دادن ماهیت) پروتئین‌ها در گوجه‌فرنگی ممانعت کند (Xu *et al.*, 2016). همچنین ممکن است ملاتونین کارایی فتوسنتز را در گیاهان افزایش دهد به این صورت که به کارایی بهتر فتوسیستم II کمک می‌کند و نیز هدایت روزنه‌ای را افزایش می‌دهد (Pitar *et al.*, 2014). استفاده از ملاتونین در درختان گیلاس رنگدانه های فتوسنتزی، کربوهیدرات و محتوای پرولین ریشه‌ها را بالا برده و گیاه را در برابر استرس‌ها مقاومت می‌کند (Sarropoulou *et al.*, 2012). مطالعات نشان دادند ملاتونین با مهار مسیر مرگ برنامه‌ی ریزی شده میتوکندریایی ناشی از اشعه فرابنفش، اثر محافظتی در برابر آسیب‌های ناشی از این اشعه دارد (Fischer *et al.*, 2008). ترکیب ملاتونین در گیاهان به عنوان یک محرک زیستی در افزایش تحمل در برابر تنش‌های زنده، غیرزنده، بهبود رشد، تحریک بیوسنتز فیتوهورمون‌ها، تسهیل جذب عناصرغذایی، رشد ریشه و افزایش کیفیت و کمیت محصول نقش دارد (Li *et al.*, 2012). در پژوهشی نشان داده شد که کاربرد ملاتونین روی میوه انگور موجب ممانعت از کاهش وزن انگور طی انبارمانی می‌گردد (Meng *et al.*, 2015). همچنین کاربرد ملاتونین سبب افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در میوه انگور (Boccalandro *et al.*, 2011) و گیلاس (Zhao *et al.*, 2013) می‌گردید. ملاتونین محرکی بر افزایش ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در انگور (Vitalini *et al.*, 2011) و میوه هلو (Gao *et al.*, 2016) می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش میوه‌های گیلاس رقم' سیاه مشهد' در حالت بلوغ تجاری و زمانی که روی درخت در بالاترین سطح کیفی قرار داشت و قابل برداشت بود (نیمه دوم اردیبهشت اوایل خرداد)، از یک باغ در شمال غربی شهر ارومیه برداشت و به آزمایشگاه علوم باغبانی دانشگاه ارومیه (واحد میاندوآب) منتقل شدند. سپس میوه‌ها از لحاظ شکل، رنگ، اندازه، عاری بودن از آفات و بیماری‌ها و صدمات ظاهری بررسی شدند. میوه‌هایی با قطر ۲۲-۲۶ میلی‌متر، سالم و عاری از آفات و بیماری انتخاب شدند و سپس ۱۵ دقیقه با ملاتونین در غلظت‌های صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار با روش غوطه وری تیمار و در ظروف پلاستیکی (۴×۱۰×۱۴سانتی‌متر) بسته‌بندی شدند. در هر ظرف تعداد ۱۵ عدد میوه قرار داده شد. میوه‌های گیلاس پس از بسته‌بندی به داخل سردخانه با دمای ۱±۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۸۵ درصد منتقل گردیدند و شاخص‌های پس از برداشت مورد مطالعه با فاصله زمانی هر ۷ روز یک بار به مدت ۵ هفته مورد بررسی قرار گرفتند.

شاخص‌های اندازه‌گیری شده

کاهش وزن میوه: برای تعیین میزان کاهش وزن، ۱۵ عدد میوه ثابت برای هر تیمار در شروع آزمایش و نیز طی دوره انبارمانی انتخاب و وزن شدند و با توجه به وزن اولیه، درصد کاهش وزن از معادله زیر محاسبه گردید (Zokaee-Khosroshahi *et al.*, 2007).

درصد کاهش وزن = (وزن اولیه میوه – وزن ثانویه میوه / وزن اولیه میوه) ×۱۰۰

عصاره آب میوه: pH آب میوه با دستگاه pH متر دیجیتالی مدل (pH-Meter CG 824) کالیبره شده با محلول‌های بافری چهار و هفت اندازه‌گیری شد. ابتدا ۱۰ تا ۳۰ میلی‌لیتر عصاره میوه را در بشر ریخته و پس از قرار دادن الکترودهای pH متر در محلول، pH مورد نظر قرائت شد (Jalilimarandi, 2004).

اسیدیته قابل تیتراسیون: برای این منظور از روش تیتراسیون استفاده شد (۲). براساس مقدار هیدروکسید سدیم مصرفی در جریان تیتراسیون مقدار اسید موجود در عصاره میوه به صورت گرم اسید در ۱۰۰ میلی لیتر عصاره میوه (گرم در ۱۰۰ میلی لیتر) محاسبه شد.

مواد جامد محلول: برای این آزمایش چند قطره از عصاره میوه گیلاس در دمای اتاق روی رفراکتومتر دستی مدل (ATAGO) قرار گرفت و عدد مربوطه از روی ستون مدرج قرائت شد و داده‌ها برحسب بریکس یاداشت گردید (Jalilimarandi, 2004).

میزان فعالیت آنتی‌اکسیدان کل عصاره میوه (DPPH): در ارزیابی آنتی‌اکسیدان‌کل ابتدا ۵۰ میکرولیتر عصاره آماده شده را با ۹۵۰ میکرولیتر DPPH مخلوط کرده و بعد از ۳۰ دقیقه توسط دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت و در فرمول زیر جاگذاری شد:

$$\% \text{ DPPH sc} = \frac{(\text{Abs control})_{t=30\,min} - (\text{Abs sample})_{t=30\,min}}{(\text{Abs control})_{t=30\,min}} \times ۱۰۰$$

که Abs sample میزان جذب DPPH در حضور نمونه عصاره و Abs control جذب DPPH بدون عصاره می‌باشد (Navarro *et al.*, 2006).

محتوای فنل کل: برای ارزیابی فنل طبق روش اسلینکارد و سینگل‌تن (Slinkard and Singleton, 1977) عمل شد و جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۶۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید.

محتوای آنتوسیانین‌کل: آنتوسیانین با استفاده از روش اختلاف pH بعد از ۳۰ دقیقه نگهداری در تاریکی در طول موج ۵۲۰ با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید (Wrolstad *et al.*, 2005).

میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز: پس از آماده سازی عصاره پروتیئنی، برای سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز از معرف های زیر استفاده گردید: به ۲ میلی‌لیتر بافر تریس ۱۰۰ میلی‌مولار، ۳۰۰ میکرولیتر آب اکسیژنه ۵ میلی‌مولار، ۲۰۰ میکرولیتر گایاکول ۱۰ میلی‌مولار که همگی آن‌ها را در حمام یخ با هم مخلوط نموده و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی اضافه نموده و منحنی تغییرات جذب در طول موج ۴۲۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد (Kochba *et al.*, 1977).

میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز: فعالیت این آنزیم براساس اکسیداسیون اسید آسوربیک و کاهش جذب در ۲۹۰ نانومتر مورد اندازه‌گیری قرار گرفت (Nakano and Asada, 1981).

تجزیه داده‌ها

این آزمایش به صورت فاکتوریل (غلظت ملاتونین×زمان) با ۵ سطح از ملاتونین (صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار) به مدت ۵ هفته در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار اجرا شد. تجزیه آماری داده ها توسط نرم افزار SAS (Ver. 9.4) انجام گرفت و میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد مقایسه شدند. برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده شد.

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس تاثیر کاربرد پس از برداشت ملاتونین بر برخی صفات بیوشیمیایی میوه گیلاس رقم 'سیاه مشهد' طی دوره انبارمانی

Table 1- ANOVA result for the effect of postharvest application of melatonin on some biochemical traits of sweet cherry fruit cv. 'Siah Mashhad' during storage

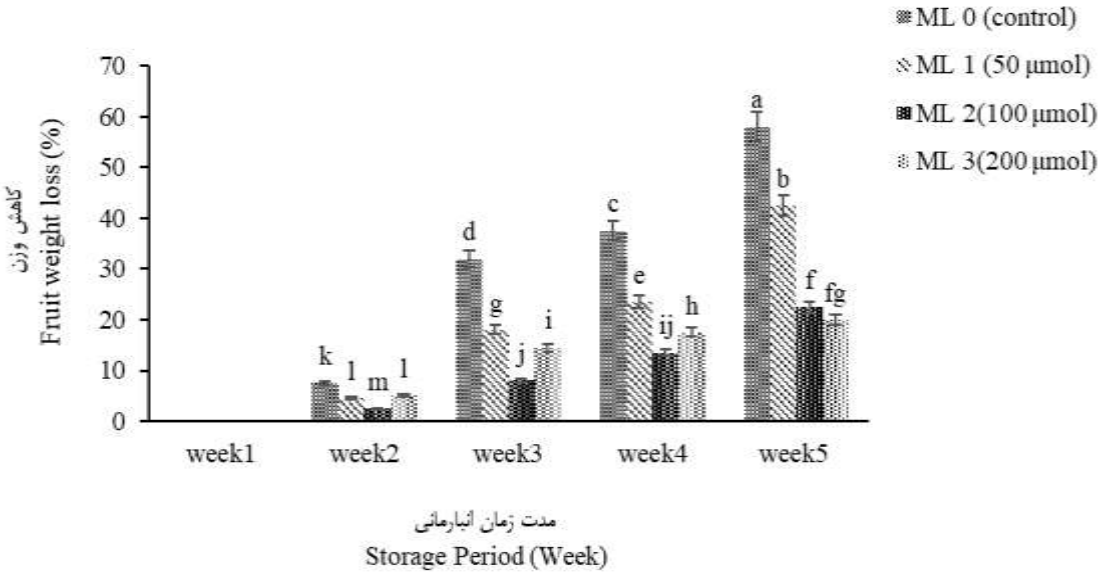
منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean squares				
		وزن میوه Fruit weight	اسیدیته قابل تیتراسیون TA	اسیدیته pH	مواد جامد محلول TSS	آنتی اکسیدان کل Total antioxidants (DPPH)
Melatonin(M)	3	77.7*	63.5*	0.24*	14.4*	184.7*
Time (T)	4	253.7*	182.1*	0.36*	26.11*	167.2*
M×T	12	154.4**	8.79*	0.12*	1.5**	17.48**
خطای آزمایش Error	-	0.5	0.27	0.019	0.02	5.7
ضریب تغییرات C.V (%)	-	14.5	6.9	9.5	15.2	16.9

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

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

نتایج و بحث

میزان کاهش وزن میوه: میزان آب از دست دهی و کاهش وزن میوه طی انبارمانی روندی افزایشی دارد. طبق نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱)، نشان داده شد که اثر متقابل ملاتونین×زمان بر وزن میوه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود و پس از گذشت ۵ هفته انبارمانی در غلظت ۱۰۰و۲۰۰ میکرومولار تیمار ملاتونین کمترین میزان (۱۸ درصد) و در نمونه شاهد بیشترین میزان (۵۸ درصد) کاهش وزن میوه‌ها نشان داده شد (شکل ۱). کاهش وزن میوه و آب از دست‌دهی طی انبارداری امری طبیعی است که طی آن آب از سطح میوه تبخیر می‌شود. دو عامل در آب از دست دهی و کاهش وزن محصول نقش دارند، یکی قطع شدن رابطه آبی میوه با گیاه مادری و دوم افزایش تعرق در سطح میوه، این رخداد یک فرآیند فیزیکی است و کاهش وزن محصول را به دنبال دارد (Zhang *et al.*, 2009). میوه گیلاس، به دلیل مقاومت نفوذی کم پوست میوه و میزان بالای تنفس روند کاهش وزن بیشتری نسبت به سایر میوه‌ها دارد (Boriss *et al.*, 2006). تیمار ملاتونین در تنظیم رشد، حفظ آب و کاهش از دست دهی وزن میوه و نیز رسیدن میوه کلیماکتریک (سیب) و غیر کلیماکتریک (انگور) تاثیرگذار بوده است (Perez-Llorca *et al.*, 2019). همچنین در پژوهشی دیده شده است که محلول‌پاشی ملاتونین موجب حفظ کیفیت، ماندگاری و افزایش عملکرد و وزن میوه انار شده است (Garcia-Pastor *et al.*, 2017). تحقیقات فوق با نتایج این پژوهش مطابقت دارد.

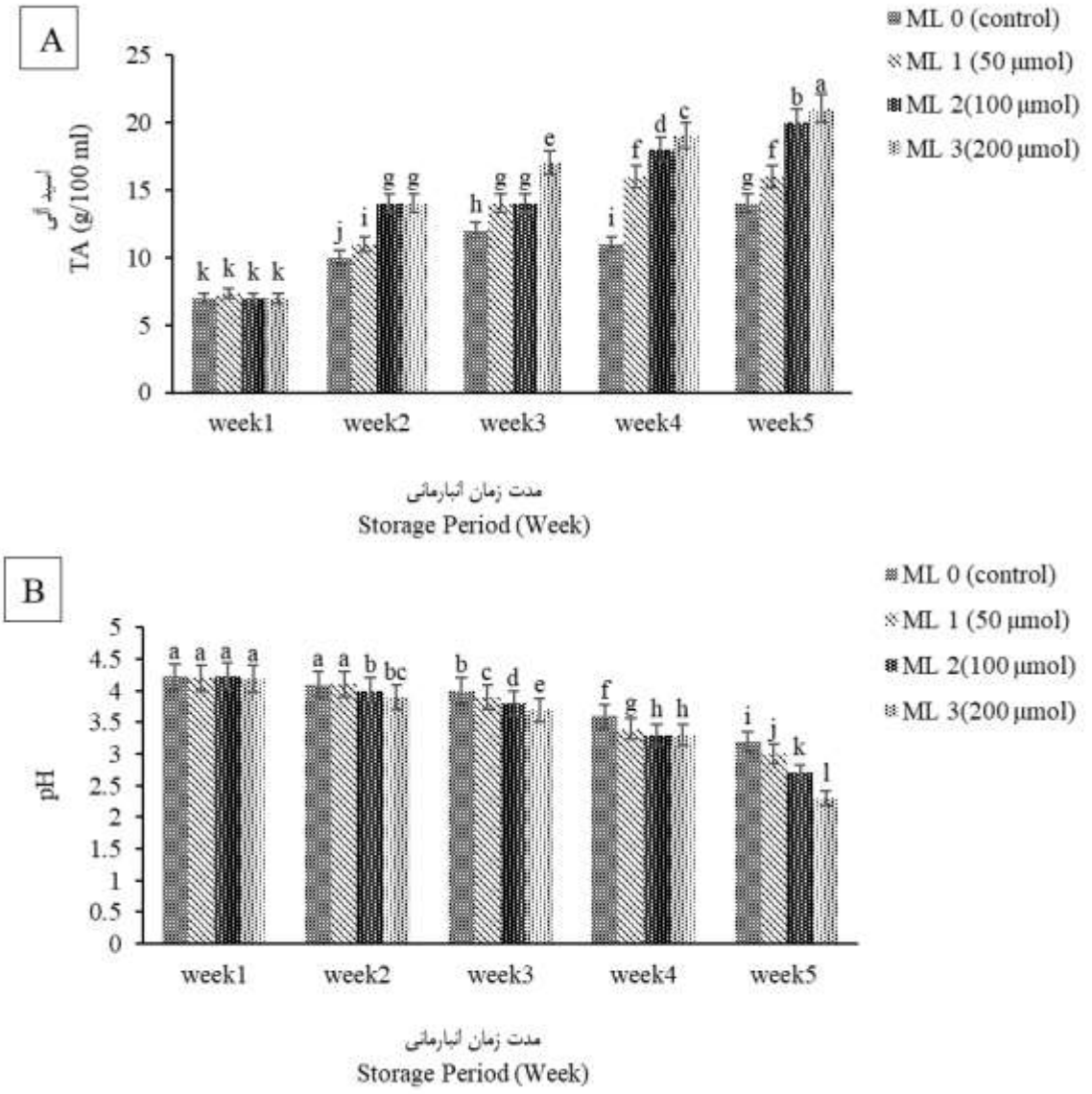


شکل ۱- تاثیر کاربرد پس از برداشت ملاتونین بر میزان کاهش وزن میوه گیلاس رقم 'سیاه مشهد' طی انبارمانی. ML 0: شاهد، ML 1: ۵۰ میکرومولار، ML 2: ۱۰۰ میکرومولار، و ML 3: ۲۰۰ میکرومولار.

Figure 1- The effect of post-harvest application of melatonin on fruit weight reduction of sweet cherry fruit cv. 'Siah Mashhad' during storage. ML 0: control, ML 1: 50 µM, ML 2: 100 µM, and ML 3: 200 µM of metatonin. (DMRT, *p≤0.05*)

میزان اسیدیته و اسیدیته قابل تیتراسیون: میزان اسیدهای آلی در میوه‌های گیلاس طی انبارمانی روندی کاهشی دارد. طبق نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱)، نشان داده شد که اثر متقابل ملاتونین×زمان بر میزان اسیدهای آلی میوه در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود. در میوه‌های تیمار شده با ۲۰۰ میکرومولار ملاتونین هفته اول به بیشترین مقدار اسید آلی (۲۲ گرم در ۱۰۰میلی‌لیتر) و کمترین آن در تیمار شاهد هفته پنجم انبارمانی به میزان (۱۳ گرم در ۱۰۰میلی‌لیتر) بوده است (شکل ۲-A). تغییرات اسیدیته نشان داد میزان اسیدیته (pH) در میوه‌های گیلاس طی انبارمانی روندی افزایشی دارد، طبق نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس (جدول ۱)، اثر متقابل ملاتونین×زمان بر میزان اسیدیته میوه در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار بود. بیشترین اسیدیته متعلق به شاهد هفته پنجم (pH= ۴/۳) و کمترین آن مربوط به تیمار۲۰۰ میکرومولار ملاتونین هفته اول انبارمانی (pH= ۲/۹) بوده است (شکل ۲-B). اسیدیته شاخص مهمی برای بررسی رسیدن میوه گیلاس می‌باشد و در طول رسیدن میوه اسید مالیک و اسید سیتریک به ترتیب مصرف شده و در نتیجه مقدار اسید قابل تیتراسیون کاهش می‌یابد. در طول دوره نگهداری پیش ماده‌های اصلی تنفس یعنی قندها و اسیدهای

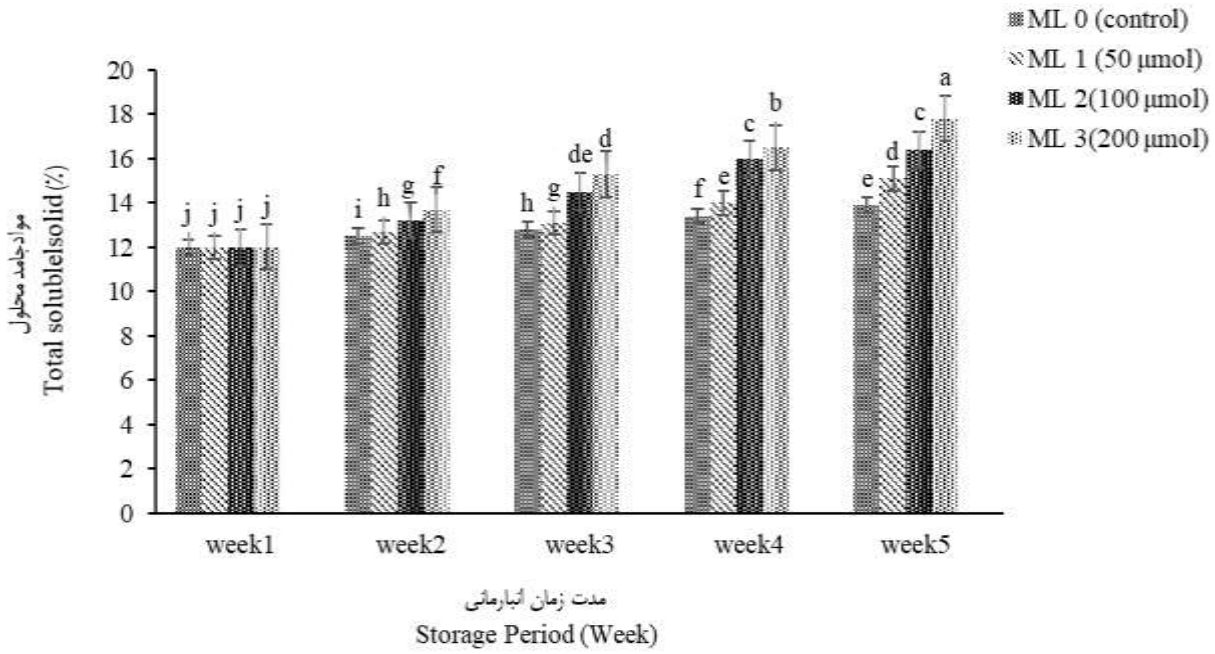
آلی کاهش پیدا می‌کنند این امر باعث افزایش در pH طی انبارمانی محصول می‌شود (Zhang, 2015). محققان بیان داشتند غوطه‌وری میوه توت فرنگی در تیمار کیتوسان سبب کند شدن روند افزایشی اسیدیته در طی انبارمانی میوه گشته و عمرانبارمانی میوه را افزایش داده است (Vargas *et al.*, 2006). تحقیقات نشان داد کاربرد ملاتونین سبب بیان سطوح مختلف نیتریک اکسید در هلو (Shi *et al.*, 2015) و مرکبات می‌شود (Zhou *et al.*, 2016). این ترکیب به صورت واسطه‌ای عمل کرده و قادر است روند کاهش اسیدآلی را در میوه مهار نموده و عمرانبارمانی را افزایش دهد. همچنین در تحقیقی دیگر بر روی میوه توت فرنگی دیده شد غوطه وری میوه با ملاتونین در غلظت ۰/۱ میلی‌مول در لیتر سبب کاهش فساد و افزایش توان حفاظتی از سطح مواد جامد محلول و اسیدیته قابل تیتراسیون می‌گردد (Liu *et al.*, 2018).



شکل ۲- تاثیر کاربرد پس از برداشت ملاتونین بر میزان اسیدآلی (A) و اسیدیته (B) میوه گیلاس رقم’ سیاه مشهد‘ طی انبارمانی. ML 0: شاهد، ML 1: ۵۰ میکرومولار، ML 2: ۱۰۰ میکرومولار، و ML 3: ۲۰۰ میکرومولار.

Figure 2 - The effect of post-harvest application of melatonin on organic acid (A) and acidity (B) contents of sweet cherry fruit cv. ‘Siah Mashhad’ during storage. ML 0: control, ML 1: 50 µM, ML 2: 100 µM, and ML 3: 200 µM of melatonin. (DMRT, *p≤0.05*)

میزان مواد جامد محلول: میزان مواد جامد محلول میوه طی انبارمانی روندی افزایشی دارد. طبق نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱)، نشان داده شد که اثر متقابل ملاتونین×زمان بر میزان مواد جامد محلول در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود و میوه‌های تیمار شده با ملاتونین ۲۰۰ میکرومولار بیشترین میزان مواد جامد محلول (۱۷ درصد بریکس) و نمونه شاهد کمترین میزان مواد جامد محلول (۱۳درصد بریکس) را طی انبارمانی داشته‌اند (شکل۳). از آنجایی که در میوه گیلاس نشاسته وجود ندارد، شیرینی در میوه گیلاس افزایش پیدا نمی‌کند مگر افزایش ناچیزی که در مواد جامد محلول‌کل به دلیل فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک یا آب از دست دهی طی انبارمانی اتفاق می‌افتد (LoScalzo *et al.*, 2007). تحقیقات نشان داده است که کاربرد محلول پاشی ملاتونین سبب بیوسنتز ژن‌های ملاتونین درونی شده و در نتیجه موجب حفظ کیفیت محصول در طی انبارمانی شده و افزایش میزان قند در میوه توت فرنگی شده است (Liu *et al.*, 2018) همچنین بیان شده کاربرد تیمار ملاتونین بصورت غوطه‌وری سبب کاهش قهوه‌ای شدن، افزایش ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و نیز مواد جامد محلول در میوه لیچی می‌گردد (Zhang *et al.*, 2018). علاوه بر این نتایج تحقیقات صورت گرفته روی انگور نشان داد که محلول‌پاشی ملاتونین اثرات مفیدی در رشد نهال، متابولیسم گلوکز و در انگور داشته است (Yang *et al.*, 2020).

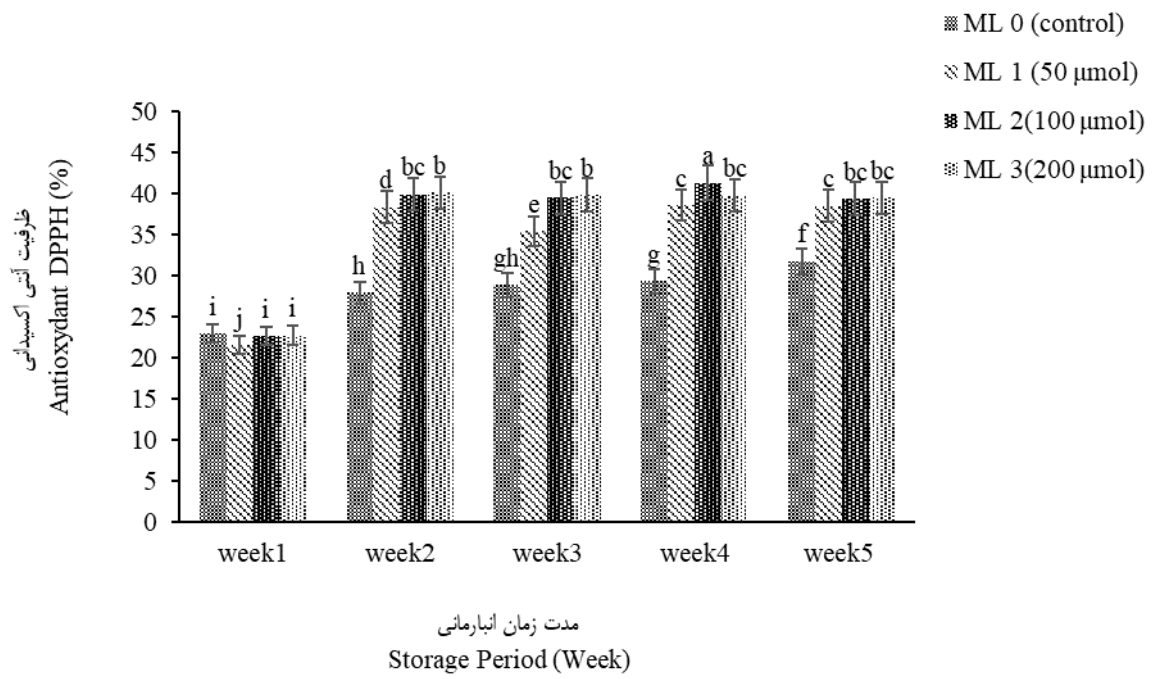


شکل ۳- تاثیر کاربرد پس از برداشت ملاتونین بر میزان موادجامد محلول میوه گیلاس رقم 'سیاه مشهد' طی انبارمانی. ML 0: شاهد، ML 1: ۵۰ میکرومولار، ML 2: ۱۰۰ میکرومولار، و ML 3: ۲۰۰ میکرومولار.

Figure 3- The effect of post-harvest application of melatonin on the amount of soluble solids of sweet cherry fruit cv. 'Siah Mashhad' during storage. ML 0: control, ML 1: 50 µM, ML 2: 100 µM, and ML 3: 200 µM of melatonin. (DMRT, *p≤0.05*)

میزان فعالیت آنتی‌اکسیدان‌کل میوه (DPPH): میزان فعالیت آنتی‌اکسیدان‌کل میوه طی انبارمانی روندی افزایشی دارد. طبق نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱)، نشان داده شد که اثر متقابل ملاتونین×زمان بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدان میوه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود و میوه‌های تیمار شده با ملاتونین۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدان را در هفته چهارم انبارمانی و با اختلاف اندکی در هفته پنجم انبارمانی به میزان (۴۳ درصد) و کمترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدان در نمونه شاهد هفته اول انبارمانی (۲۲ درصد) نشان داده است (شکل ۴). گیاهان برای مقابله با تنش اکسیداتیو، سیستم آنتی‌اکسیدانی خود را فعال می‌کنند و با تولید آنزیم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی از تخریب سلول‌ها خود جلوگیری می‌نمایند (Gill and Tuteja, 2010). ملاتونین یک آنتی‌اکسیدان قوی با ظرفیت بالا است (Vitalini *et al.*, 2011) و مطالعات نشان داده است که کاربرد ملاتونین به صورت غوطه‌وری قادر به ارتقاء میزان محتوای سیستم آنتی‌اکسیدانی در محصولات باغی از قبیل مرکبات شده و به این ترتیب اثرات ناشی از

تنش را کاهش می‌دهد (Lin *et al.*, 2019). همچنین محلول‌پاشی ملاتونین در بالا بردن فعالیت آنتی‌اکسیدانی و افزایش سطح پرولین به جهت مقابله با تنش در میوه انگور مشاهده شده است (Wang *et al.*, 2013).



شکل ۴- تاثیر کاربرد پس از برداشت ملاتونین بر میزان آنتی‌اکسیدان کل میوه گیلاس رقم 'سیاه مشهد' طی انبارمانی. ML 0: شاهد، ML 1: ۵۰ میکرومولار، ML 2: ۱۰۰ میکرومولار، و ML 3: ۲۰۰ میکرومولار.

Figure 4- The effect of post-harvest application of melatonin on total antioxidant levels of sweet cherry fruit cv. 'Siah Mashhad' during storage. ML 0: control, ML 1: 50 µM, ML 2: 100 µM, and ML 3: 200 µM of melatonin. (DMRT, *p≤0.05*)

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس تاثیر کاربرد پس از برداشت ملاتونین بر برخی صفات بیوشیمیایی میوه گیلاس رقم 'سیاه مشهد' طی دوره انبارمانی

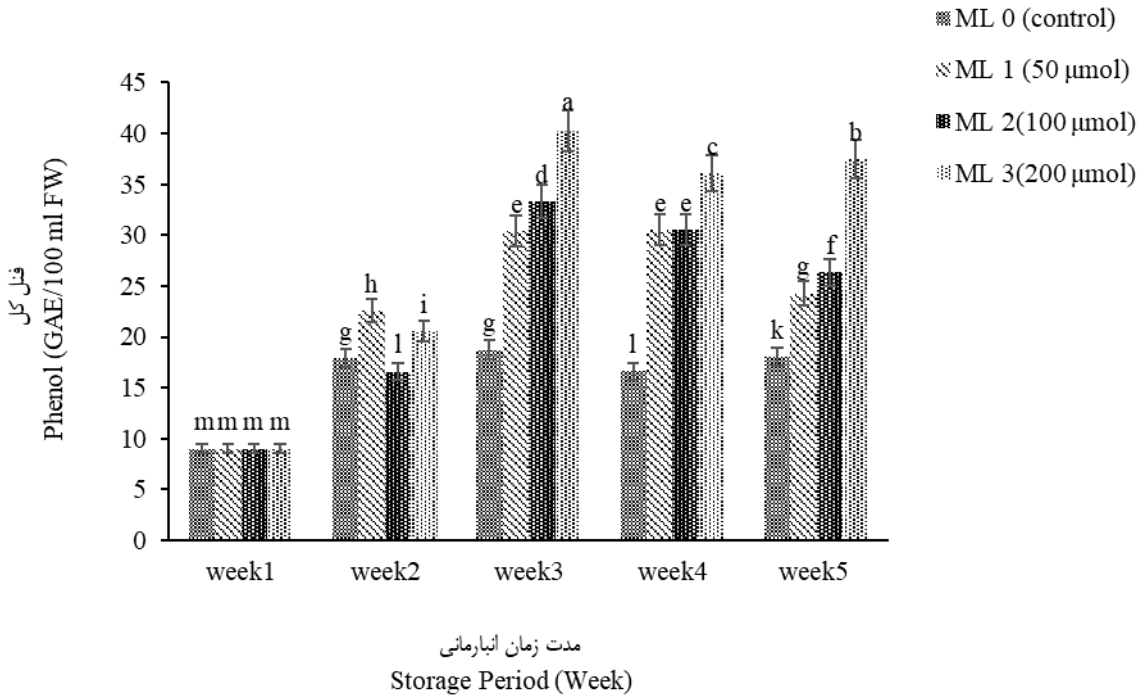
Table 2- ANOVA result for the effect of post-harvest application of melatonin on some biochemical traits of sweet cherry fruit cv. 'Siah Mashhad' during storage

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean squares			
		فنل کل Total phenolic	آنتوسیانین کل Total Anthocyanin	فعالیت پراکسیداز Peroxidase Activity	فعالیت آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase activity
Melatonin(M)	3	2.7*	120.5*	101.5*	137.8*
Time (T)	4	354.1**	259.2*	115.3*	230.7*
M×T	12	6.5**	19.7**	41.7**	61.41*
خطای آزمایش Error	-	0.02	0.73	5.5	7.47
ضریب تغییرات C.V (%)	-	15.2	8.9	15.2	16.3

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

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

میزان محتوای فنل‌کل: میزان ترکیبات فنلی میوه طی انبارمانی روندی افزایشی دارد. طبق نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲)، نشان داده شد که اثر متقابل ملاتونین×زمان بر میزان ترکیبات فنلی میوه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود و پس از گذشت ۵ هفته انبارمانی میوه‌های تیمار شده با ۲۰۰ میکرومولار ملاتونین بیشترین میزان ترکیبات فنلی را در طی هفته سوم تا پنجم انبارمانی به میزان (۴۰ میلی‌گرم بر صد گرم وزن تر اسیدگالیک) و کمترین میزان در نمونه شاهد هفته اول انبارمانی (۸ میلی‌گرم بر صد گرم وزن تر اسیدگالیک) بوده است (شکل ۵). میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ارتباط مستقیم با فنل‌کل دارد و این امر در انبارمانی محصولات نقش ویژه‌ای اعمال می‌کند (Zovko-Koncic *et al.*, 2010). ترکیبات فنلی یکی از متابولیت‌های مهم گیاهی‌اند که از مسیر شیکمیک اسید سنتز می‌شوند و نقش مهمی را در خنثی سازی اثر رادیکال‌های آزاد برعهده دارند (Lattanzio *et al.*, 2012). تحقیقات نشان داد که کاربرد ملاتونین به صورت غوطه‌وری در میوه انبه سبب سفتی، بهبود رنگ گوشت، افزایش میزان بتا کاروتن و ترکیبات فنلی می‌شود (Liu *et al.*, 2020). در آزمایش دیگری که توسط یانگ و همکاران بر روی گیلاس انجام شد، نتایج نشان داد که استفاده از ملاتونین کیفیت میوه را از طریق افزایش میزان مواد جامد محلول و فنل‌کل و آسکوربیک اسید افزایش می‌دهد (Xia *et al.*, 2020). پژوهش ما نشان داد در میوه گیلاس تیمار شده با ملاتونین ترکیبات فنلی افزایش معنی‌داری پیدا کرده‌اند و این به دلیل بالا رفتن سطح فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در میوه گیلاس طی انبارمانی بوده است.

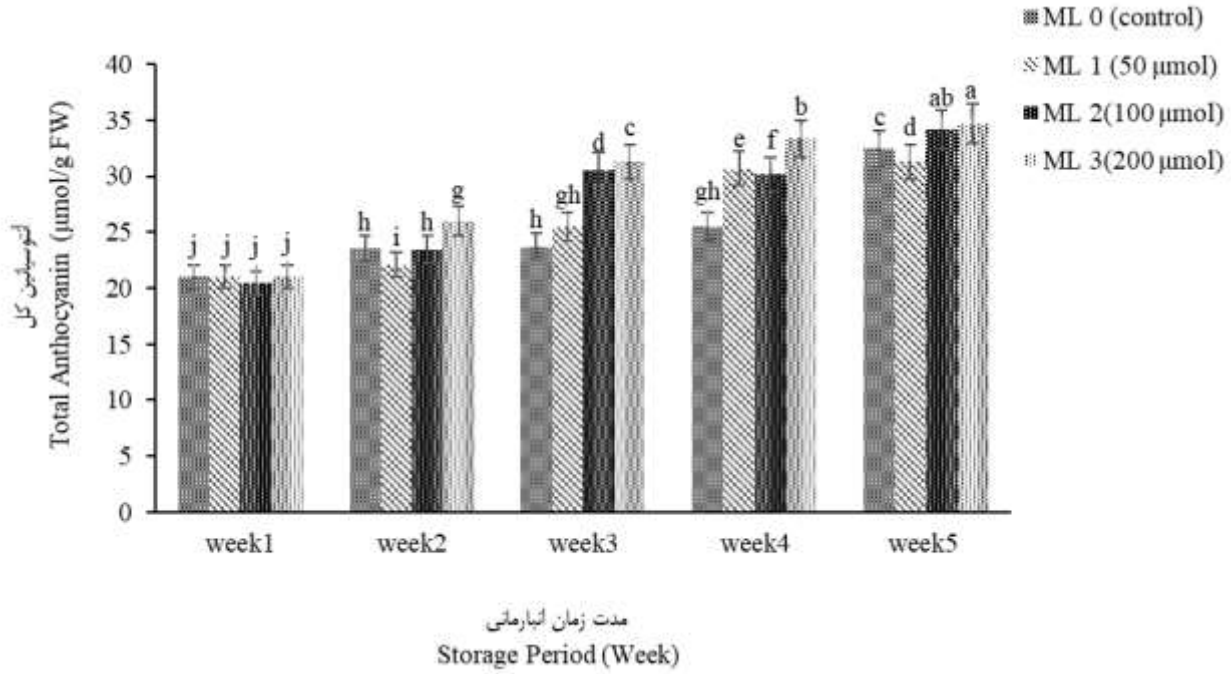


شکل ۵- تاثیر کاربرد پس از برداشت ملاتونین بر میزان محتوای فنل‌کل میوه گیلاس رقم 'سیاه مشهد' طی انبارمانی. ML 0: شاهد، ML 1: ۵۰ میکرومولار، ML 2: ۱۰۰ میکرومولار، و ML 3: ۲۰۰ میکرومولار.

Figure 5- The effect of post-harvest application of melatonin on phenolic content of sweet cherry fruit cv. 'Siah Mashhad' during storage. ML 0: control, ML 1: 50 µM, ML 2: 100 µM, and ML 3: 200 µM of melatonin. (DMRT, *p≤0.05*)

میزان محتوای آنتوسیانین کل: میزان محتوای آنتوسیانین میوه طی انبارمانی روندی افزایشی دارد. طبق نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲)، نشان داده شد که اثر متقابل ملاتونین×زمان بر محتوای آنتوسیانین میوه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود و محتوای آنتوسیانین پس از گذشت ۵ هفته انبارمانی در غلظت ۱۰۰و۲۰۰ میکرومولار تیمار ملاتونین بیشترین میزان آنتوسیانین (۳۴ میکرومول بر گرم وزن تر) و در نمونه شاهد کمترین میزان آنتوسیانین (۲۱ میکرومول بر گرم وزن تر) را نشان داد (شکل ۶). آنتوسیانین‌ها جزء ترکیبات محلول در آب بوده و در واکوئل‌ها تجمع می‌یابند (Reque *et al.*, 2014). این ترکیبات جزء اصلی فنلی میوه هستند و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها تا حدودی تحت تاثیر محتوای فنلی می‌باشد (Deighton *et al.*, 2009). تحقیقات نشان

داد غوطه‌وری انگور در تیمار ملاتونین سبب تجمع ترکیبات فنلی و آنتوسیانینی در میوه می‌گردد (Meng *et al.*, 2019). همچنین گزارش شده است که محلول‌پاشی ملاتونین قادر است محتوای آنتوسیانین‌کل میوه توت فرنگی و بیان ژن‌های مسیر بیوسنتز آنتوسیانین را افزایش دهد (Kalt *et al.*, 1999). با توجه به تحقیقات فوق می‌توان گفت ملاتونین بر روی محتوای آنتوسیانین‌کل موثر بوده و علاوه بر حفظ سطح آنتی‌اکسیدانی این ترکیبات در سلول محتوای آنتوسیانین‌کل را طی انبارمانی افزایش داده است.

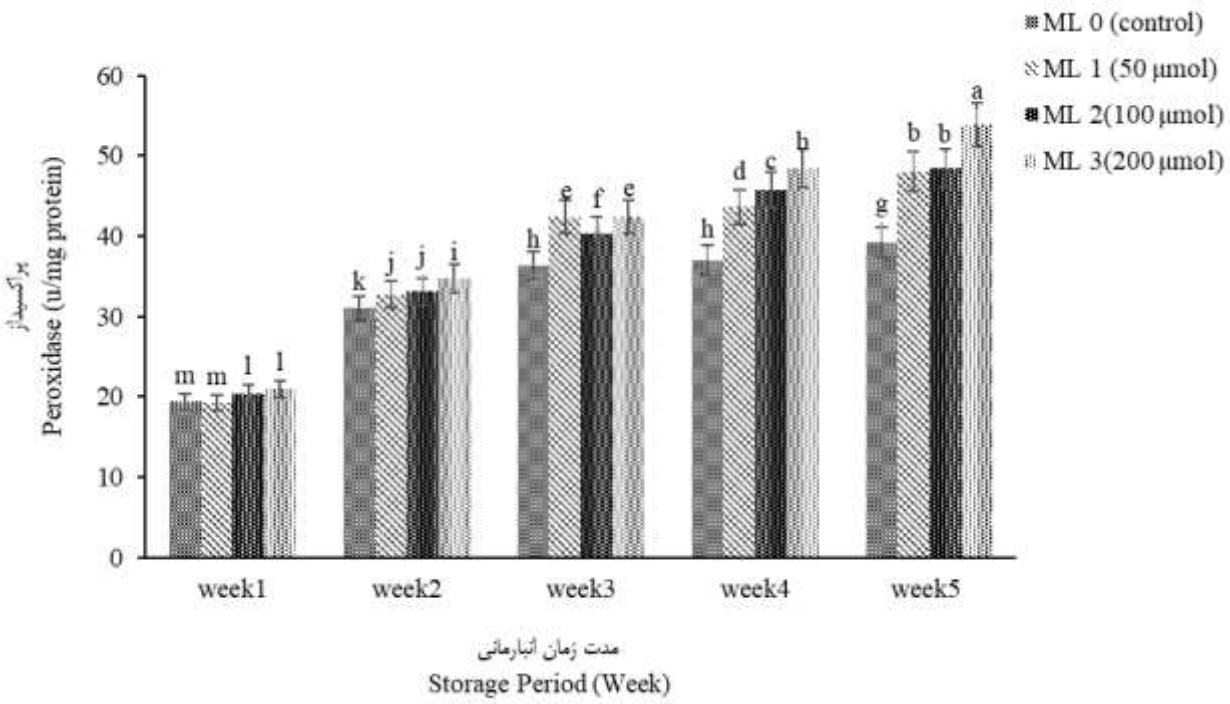


شکل ۶- تاثیر کاربرد پس از برداشت ملاتونین بر میزان محتوای آنتوسیانین‌کل میوه گیلاس رقم 'سیاه مشهد' طی انبارمانی. ML 0: شاهد، ML 1: ۵۰ میکرومولار، ML 2: ۱۰۰ میکرومولار، و ML 3: ۲۰۰ میکرومولار.

Figure 6- The effect of post-harvest application of melatonin on the total anthocyanin- content of sweet cherry fruit cv. 'Siah Mashhad' during storage. ML 0: control, ML 1: 50 µM, ML 2: 100 µM, and ML 3: 200 µM. (DMRT, *p≤0.05*)

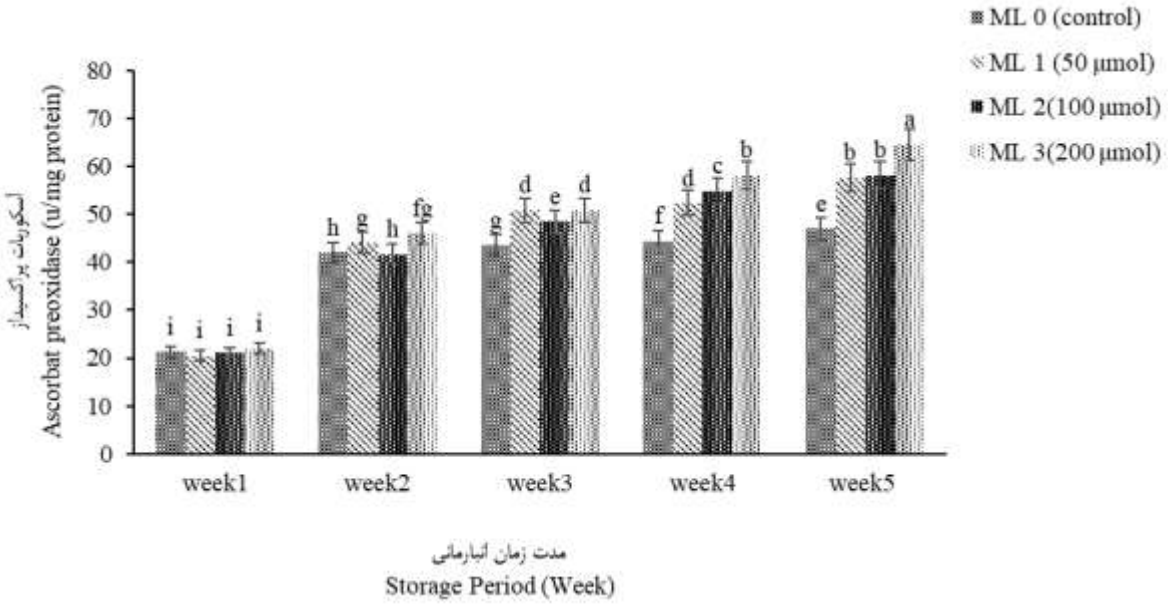
میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز: میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز میوه طی انبارمانی روندی افزایشی دارد. طبق نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲)، نشان داده شد که اثر متقابل ملاتونین×زمان بر فعالیت آنزیم پراکسیداز میوه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود و در هفته پنجم، تیمار ملاتونین۲۰۰ میکرومولار بیشترین سطح فعالیت آنزیم پراکسیداز (۵۷ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) و نمونه شاهد هفته اول کمترین سطح فعالیت آنزیم پراکسیداز (۲۰ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) را نشان داد (شکل ۷). در اثر قطع ارتباط بافت میوه با گیاه مادری و افزایش تنش در طول دوره انبارمانی، میزان مواد ذخیره‌ای و پیش ماده‌های آنتی‌اکسیدانی کاهش می‌یابد اما استفاده از پوشش خوراکی سبب کاهش این روند در محصول می‌گردد (Xing *et al.*, 2011). پراکسیداز با داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی باعث فعال شدن پاسخ‌های دفاعی در برابر تنش‌ها شده و همراه با سایر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی باعث حذف رادیکال‌های آزاد می‌شود (Mo *et al.*, 2008). ملاتونین به عنوان اولین خط دفاعی برای محافظت گیاهان در برابر استرس‌های زنده و غیر زنده است که از طریق بیوسنتز آنتی‌اکسیدان‌ها، فعالیت آنزیم‌های مربوط به پیری را مهار می‌کند (Liang *et al.*, 2018). کاربرد غوطه‌وری تیمار ملاتونین سبب تاخیر در پیری میوه هلو شد و با افزایش محتوای فنلی و آنتی‌اکسیدانی میزان پراکسیدهیدروژن را کاهش داد (Cao *et al.*, 2016).

میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز: میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز میوه طی انبارمانی روندی افزایشی دارد. طبق نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲)، نشان داده شد که اثر متقابل ملاتونین×زمان بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز میوه در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود و در هفته پنجم، تیمار ملاتونین۲۰۰ میکرومولار بیشترین سطح فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (۶۶ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) و نمونه شاهد هفته اول کمترین سطح فعالیت آنزیم پراکسیداز (۲۱ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) را نشان داد (شکل ۸).



شکل ۷- تاثیر کاربرد پس از برداشت ملاتونین بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز میوه گیلاس رقم 'سیاه مشهد' طی انبارمانی.ML 0: شاهد، ML 1: ۵۰ میکرومولار، ML 2: ۱۰۰ میکرومولار، و ML 3: ۲۰۰ میکرومولار.

Figure 7- The effect of post-harvest application of melatonin on peroxidase activity of sweet cherry fruit cv. 'Siah Mashhad' during storage. ML 0: control, ML 1: 50 µM, ML 2: 100 µM, and ML 3: 200 µM of melatonin. (DMRT, *p≤0.05*)



شکل ۸- تاثیر کاربرد پس از برداشت ملاتونین بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز میوه گیلاس رقم 'سیاه مشهد' طی انبارمانی. ML 0: شاهد، ML 1: ۵۰ میکرومولار، ML 2: ۱۰۰ میکرومولار، و ML 3: ۲۰۰ میکرومولار.

Figure 8- The effect of melatonin application after harvest on the activity of ascorbate peroxidase of sweet cherry fruit cv. 'Siah Mashhad' during storage. ML 0: control, ML 1: 50 µM, ML 2: 100 µM, and ML 3: 200 µM of melatonin. (DMRT, *p≤0.05*)

ملاتونین به عنوان یک مولکول ایندولی سالم و مفید نه تنها بـه-عنوان یک محرک درون‌زاد بلکه دارای نقش مستقیم آنتـی‌اکسـیدانی است و به جاروب کـردن رادیکـال‌هـای آزاد کمـک مـی‌کنـد (Bal, 2019). تحقیقات نشان داد غوطه‌وری گلابی با تیمار ملاتونین سـبب تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی در میوه شده و فعالیـت رادیکـال آزاد را مهار می‌کند (Zhai *et al*., 2018). عـلاوه بـر آن دیـده شـده تیمار ملاتونین سبب تجمع فنل‌ها ، فلاونوئیـدها و آنتوسـیانین‌هـا در میوه انگور نیز می‌شوند (Xu *et al*., 2017). نتایج تحقیقات فـوق بـا نتایج این پژوهش مطابقت دارد.

نتیجه‌گیری

میوه گیلاس به علت سرعت بالای تـنفس و فعالیـت متـابولیکی ماندگاری پایینی دارد. استفاده از ترکیبات پوششی می‌توانـد تـا حـدود زیادی عمر انبارمانی محصول را بالا ببرد. ملاتونین ترکیبی سازگار بـا میوه بوده و سبب افزایش فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و کند شدن روند کاهش وزن میوه گیلاس شده است. کاربرد غوطه وری این ترکیب به میزان ۲۰۰ میکرومولار بـر روی میـوه گـیلاس رقـم' سـیاه مشـهد' موجب افزایش فعالیت‌های آنزیمی و حفظ کیفیت میوه طی پنج هفته انبارمانی گردیده است. لذا کاربرد این ترکیب می‌تواند به عنوان روشی مناسب و سودمند در انبارمانی میوه گیلاس توصیه گردد.

منابع

1- Arnao M.B. 2014. Phyto melatonin: Discovery, content, and role in plants. Advances in Botany. https://doi.org/10.1155/2014/815769.

2- Ayala–Zavala J., Wang F., Wang C., and Gonzalez–Aguilar G. 2007. High oxygen treatment increases antioxidant capacity and postharvest life of strawberry fruit. Food Technology and Biotechnology 425: 166-173.

3- Baghurst R., and Coghill R. 2006. A study of melatonin in plant tissues and its dietary and health implications. Bio electromagnetics current concepts. Springer. https://doi.org/10.1007/s11738-013-1372-0.

4- Bal E. 2019. Physicochemical changes in 'Santa Rosa'plum fruit treated with melatonin during cold storage. Journal of Food Measurement and Characterization 13(3): 1713-1720. https://doi.org/10.1007/s11694-019-00088-6.

5- Bernalte M.J., Sabio E., Hernandez M., and Gervasini C. 2003. Influence of storage delay on quality of 'Van' sweet cherry. Postharvest Biology and Technology 28: 303-312.

6- Boccalandro H.E., Gonzalez C.V., and Wunderlin D.A. 2011. Melatonin levels, determined by LC-ESI-MS/MS, fluctuate during the day/night cycle in *Vitis vinifera* cv. Malbec: evidence of its antioxidant role in fruits. Journal of Pineal Research 51: 226-232.

7- Boriss H.J., Brunke H., Specialist A., and Kreith M. 2006. Commodity Profile: cherries, sweet and tart. Journal of Plant Sciences 85: 324-326.

8- Cao S., Song C., Shao J., Bian K., Chen W., and Yang Z. 2016. Exogenous melatonin treatment increases chilling tolerance and induces defense response in harvested peach fruit during cold storage. Journal of Agricultural and Food Chemistry 64: 5215-5222.

9- Dahital R., Mora N., Watson D., Kohli P., and Choudhary R. 2018. Efficacy of limonene nano coatings on post-harvest shelf life of strawberries. LWT-Food Science and Technology 97: 124-132.

10- Deighton N., Stewart D., Davies H.V. Gardner P.T., Duthie G.G., Mullen W., and Crozier A. 2009. Soft fruit as sources of dietary antioxidants. Acta Horticulturae 585: 459-465.

11- Fischer T.W., Zmijewski M.A., Wortsman J., and Slominski A. 2008. Melatonin maintains mitochondrial membrane potential and attenuates activation of initiator (casp-9) and effector caspases (casp-3/casp-7) and PARP in UVR-exposed HaCaT keratinocytes. Journal Pineal Research 44: 397- 407.

12- Garcia-Pastor M., Guillen F., Zapata P., Agullo V., Castillo S., Serrano M., and Valero D. 2017. Melatonin: a new tool to increase yield and quality at harvest and to extend postharvest shelf-life of pomegranate. Paper presented at the IV International Symposium on Pomegranate and Minor Mediterranean Fruits 1254. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2019.1254.43.

13- Gill S.S., and Tuteja N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. Plant Physiology and Biochemistry.

14- Ghorbani B., Pakkish Z. and Najafzadeh R. 2018. Shelf life improvement of grape (*Vitis vinifera* L. cv. Rish Baba) using nitric oxide (NO) during chilling damage. International Journal of Food Properties 14: 2750-2763. https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1373663

15- Gao H., Zhang Z.K., Chai H.K., Cheng N., Yang Y., Wang D.N., Yang T., Cao W. 2016. Melatonin treatment delays postharvest senescence and regulates reactive oxygen species metabolism in peach fruit. Postharvest Biology and Technology, 118: 103-110. https://doi.org/10.1590/fst.15221

16- Jalilimarandi R. 2004. Postharvest Physiology (Handling and storage of fruits, vegetables and ornamental plants).

Publishers Jihad Urmia University. Second edition, p. 276. [In Farsi].
17- Kalt W., Forney C.F., Martin A., and Prior R.L.1999. Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics, and anthocyanins after fresh storage of small fruits. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47: 4638-4644.
18- Kochba J., Lavee S., and Spiegel-Roy P. 1977. Differevces in peroxidase activity and isoenzymes in embryogenic and non-embryogenic 'shamouti' orange ovular callus lines". Plant and Cell Physiology, 18: 463-497.
19- Lattanzio V., Cardinali A., and Linsalata V. 2012. Plant phenolics: A biochemecal and physiological perspective, In: Cheynier, V., Sarni-Manchado, P., Quideau, S. (Eds.), Recent advances in polyphenol research, 1 ed. John Wiley and Sons, Ltd, Wiley-Blackwell, 1-39. https://doi.org/10.1002/9781118299753.ch1.
20- Lei X.Y., Zhu R.Y., Zhang G.Y., and Dai Y.R. 2004. Attenuation of cold-induced apoptosis by exogenous melatonin in carrot suspension cells: The possible involvement of polyamines. Journal of Pineal Research 36(2): 126-131.
21- Li C., Tan D.X., Liang D., Chang C., Jia D., and Ma F. 2014. Melatonin mediates the regulation of ABA metabolism, free-radical scavenging, and stomatal behavior in two Malus species under drought stress. Journal of Experimental Botany. eru476.
22- Li C., Wang P., Wei Z., Liang D., Liu C., Yin L., and Ma F. 2012. The mitigation effects of exogenous melatonin on salinity-induced stress in *Malus hupehensis*. Journal of Pineal Research 53(3): 298-306. doi: 10.1111/j.1600-079X.2012.00999.x. Epub 2012 Apr 17.
23- Liang B., Ma C., Zhang Z., Wei Z., Gao T., Zhao Q., and Li C. 2018. Long-term exogenous application ofmelatonin improves nutrient uptake fluxes in apple plants under moderate drought stress. Environmental and Experimental Botany 155: 650-661. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2018.08.016.
24- Lin Y.L., Fan L., Xia X.H., Wang Z.K., Yin Y.P., Cheng Y.L., and Li Z.G. 2019. Melatonin decreases resistance to postharvest green mold on citrus fruit by scavenging defenserelated reactive oxygen species. Postharvest Biology and Technology 153: 21-30.
25- Liu C.H., Zheng H.H., Sheng K.L., Liu W., and Zheng L. 2018. Effects of melatonin treatment on the postharvest quality of strawberry fruit. Postharvest Biology and Technology 139: 47-55. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.01.016.
26- Liu S., Huang H., Huber D. J., Pan Y., Shi X., and Zhang Z. 2020. Delay of ripening and softening in '*Guifei'mango* fruit by postharvest application of melatonin. Postharvest Biology and Technology 163: 111136. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2020.111136.
27- LoScalzo R., Bianchi G., Genna A., and Summa C. 2007. Antioxidant properties and lipidic profile as quality indexes of cauliflower (*Brassica oleracea* L. var.botrytis) in relation to harvest time. Food Chemistry, 100(3): 1019-1025.
28- Martinez-Romero D., Alburquerque N., Valverde J.M., Guillen F., Castillo S., Valero D., and Serrano M. 2005. Postharvest sweet cherry quality and safety maintenance by Aloe vera treatments: A new edible coating. Postharvest Biology and Technology 39: 93-100.
29- Meng J.F., Yu Y., Shi T.C., Fu Y.S., Zhao T., and Zhang Z.W. 2019. Melatonin treatment of pre-veraison grape berries modifies phenolic components and antioxidant activity of grapes and wine. Food Science and Technology 39 (1), 35-42. https://doi.org/10.1590/1678-457X.24517.
30- Meng J.F., Xu T.F., Song C.Z., Yu Y., Hu F., Zhang L., and Xi Z.M. 2015. Melatonin treatment of pre-veraison grape berries to increase size and synchronicity of berries and modify wine aroma components. Food Chemistry 185: 127-134.
31- Mo Y., Gong D., Liang L., Han R., Xie J., and Li W. 2008. Enhanced preservation effects of suger apple fruits by salicylic acid treatment during postharvest storage. Journal of Science and Food Agriculture 88: 2693-2699.
32- Mohammadi A., Hashemi M., and Hosseni S. 2016. Effect of chitosan molecular weight as micro and nanoparticles on antibacterial activity against some soft rot pathogenic bacteria. LWT - Food Science and Technology 71: 347-355.
33- Nakano Y., and Asada K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate- specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant and Cell Physiology 22: 867-880.
34- Navarro J.M., Flores P. Garrido C., and Martínez V. 2006. Changes in the contents of antioxidants compounds in pepper fruits at different ripening stages, as affected by salinity. Food Chemistry 96: 66-73.
35- Perez-Llorca M., Munoz P., Muller M., and Munne-Bosch S. 2019. Biosynthesis, metabolism and function of auxin, salicylic acid and melatonin in climacteric and non-climacteric fruits. Frontiers in Plant Science 10: 57-68. https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00136.
36- Petriccione M., Sanctis F., Pasquariello M.S., Mastrobuoni F., Rega P., Scortichini M., and Mencarelli F. 2014. The Effect of Chitosan Coating on the Quality and Nutraceutical Traits of Sweet Cherry during Postharvest Life. Food and Bioprocess Technology 8(2): 40-53.
37- Pitar R., Marco-contelles J., Ramos E. 2014. Melatonin as potential candidate to prevent the toxicity induced b chemical warfare agents. Archives of Toxicology, 88: 3-4

38- Reiter R.J., Tan D.X., Rosales-corral S.A. 2013.The universal nature, unequal distribution and antioxidant functions of melatonin and its derivatives. Mini-Reviews in Medicinal Chemistry 13: 373-384.
39- Reque P.M., Steffens R.S., Jablonski A., Flores S.H. 2014. Cold storage of blueberry (*Vaccinium* spp.) fruits and juice: Anthocyanin stability andante oxidant activity. Journal of Food Composition and Analysis 33(1): 111-116.
40- Sarropoulou V.N., Dimassi-theriou K.N., Therios I.N. 2012. Melatonin enhances root regeneration, photosynthetic pigments, biomass, total carbohydrates and proline content in the cherry rootstock PHL-C (*Prunus avium* x *Prunus cerasus*). Plant Physiology and Biochemistry 61: 162-168.
41- Shi H., and Chan Z. 2014. The cysteine2/histidine2-type transcription factor zinc finger of Arabidopsis thaliana 6-activated C-repeat-binding factor pathway is essential for melatonin-mediated freezing stress resistance in Arabidopsis. Journal of Pineal Research 57: 185-191.
42- Shi J.Y., Liu N., Gu R.X., Zhu L.Q., Zhang C., Wang Q.G., Lei Z.H., Liu Y.Y., and Ren J.Y. 2015. Signals induced by exogenous nitric oxide and their role in controlling brown rot disease caused by Monilinia fructicola in postharvest peach fruit. Journal of General Plant Pathology 81(1): 68-76. https://doi.org/10.3390/foods11050773.
43- Slinkard K. and Singleton V.L. 1977. Total phenol analysis Automatin and comparison with manual methods. American. Journal of Enology and Viticulture 28: 49-55.
44- Tan D.X., Hardeland R., Manchester L.C., Korkmaz A., Ma S., Rosales-Corral S., and Reiter R.J. 2012. Functional roles of melatonin in plants, and perspectives in nutritional and agricultural science. Journal of Experimental Botany 63(2): 577-597.
45- Tan D.X., Manchester L.C., Helton P., and Reiter R.J. 2007. Phyto remediative capacity of plants enriched with melatonin. Plant Signaling and Behavior 2(6): 514-516.
46- Vargas M., Albors A., Chiralt A., and Gonzalez-Martinez C. 2006. Quality of cold-stored strawberries as affected by chitosan-oleic acid edible coatings. Postharvest Biology and Technology 41: 164-71.
47- Vitalini S., Gardana C., Zanzotto A., Fico G., Faoro F., Simonetti P., and Iriti M. 2011. From vineyard to glass: Agrochemicals enhance the melatonin and total polyphenol contents and antiradical activity of red wines. Journal of Pineal Research 51(3): 278-285.
48- Wang P., Sun X., Li C., Wei Z., Liang D., and Ma F. 2013. Long-term exogenous application of melatonin delays drought-induced leaf senescence in apple. Journal of Pineal Research 54: 292-302.
49- Wrolstad R.E., Durst R.W., and Lee J. 2005. Tracking color and pigment changes in anthocyanin products. Trends in Food Science and Technology 16(9): 423-8.
50- Xia H., Shen Y., Shen T., Wang X., Zhang X., Hu P., and Wang J. 2020. Melatonin accumulation in sweet cherry and its influence on fruit quality and antioxidant properties. Molecules 25(3): 753.
51- Xing Y., Li X., Xu Q., Yun J., Lu Y., and Tang Y. 2011. Effects of chitosan coating enriched with cinnamon oil on qualitative properties of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.), Journal of Food Chemistry 124: 1443-1450.
52- Xu L., Yue Q., Bian F., Sun H., Zhai H., and Yao Y. 2017. Melatonin enhances phenolics accumulation partially via ethylene signaling and resulted in high antioxidant capacity in grape berries. Frontiers in Physiology 8: 14-26.
53- Xu W., Cai S.Y., Zhang Y., Wang Y., Ahammed G.J., Xia X.J., and Zhou J. 2016. Melatonin enhances thermos tolerance by promoting cellular protein protection in tomato plants. Journal of Pineal Research 61(4): 457-469.
54- Yang M., Wang L., Belwal T., Zhang X., Lu H., Chen C., and Li L. 2020. Exogenous melatonin and abscisic acid expedite the flavonoids biosynthesis in grape berry of *Vitis vinifera* cv. Kyoho. Molecules 25(1): 12.
55- Zhao Y., Tan D.X. Lei Q. 2013. Melatonin and its potential biological functions in the fruits of sweet cherry. Journal of Pineal Research 55:79-88.
56- Zhai R., Liu J., Liu F., Zhao Y., Liu L., Fang C., Wang H., Li X., Wang Z., Ma F., and Xu L. 2018. Melatonin limited ethylene production, softening and reduced physiology disorder in pear (*Pyrus communis* L.) fruit during senescence. Postharvest Biology and Technology 139: 38-46. https:/doi.org/10.3390/plants11050688.
57- Zhang J., Kluera N.Y., Wang Z., Ray W., Ho T.D., and Nguyen H.T. 2009. Genetic engineering for abiotic stress resistance in crop plants. In Vitro Cell Developmental Biology Plant 36: 108-114.
58- Zhang N.S. 2015.Roles of melatonin in abiotic stress resistance in plants. Journal of Experimental Botany 66: 647 56.
59- Zhang Y.Y., Huber D.J., Hu M.J., Jiang G.X., Gao Z.Y., Xu X.B., Jiang Y.M., and Zhang Z.K. 2018.Melatonin delays postharvest browning in litchi fruit by enhancing anti oxidative processes and oxidation repair. Journal of Agricultural and Food Chemistry 10: 10-21.
60- Zhou Y.H., Li S.M., and Zeng K.F. 2016. Exogenous nitric oxide induced postharvest disease resistance in citrus fruit to Colletotrichum gloeosporioides. Ournal of the Science of Food and Agriculture 96(2): 505-512.
61- Zokaee-Khosroshahi M.R., and Esna-Ashari M. 2007. Postharvest putresciene treatments extend the storage- life of apricot (*Prunus armeniaca* L.) Etokhm-Sefid, fruit. Journal of Horticultural Science and Biotechnology 82: 986-990.
62- Zovko-Koncic M., Kremer D., Schuhly W., Brantner A., Karlovic K., and Kalodera Z. 2010. Chemical differentiation of *Berberis.croatica* and *Berberis.vulgaris* using HPLC finger printing. Croatica Chemica Acta 83: 451-456.

Journal of Horticultural Science
https:// jhs.um.ac.ir

Research Article
Vol. 36, No. 1, Spring 2022, p. 87-101

Evaluation of Phonological, Morphological, and Pomological Characteristics of Some Nectarine Cultivars and Genotypes under Khorasan Razavi Province Climatic Conditions

A. Ghahramani[1] - E. Ganji-Moghadam[2]*- A. Marjani[3]

Received: 08-02-2021
Revised: 01-05-2021
Accepted: 16-05-2021
Available Online: 20-06-2022

How to cite this article:
Ghahramani A., Ganji-Moghadam E., and Marjani A. 2022. Evaluation of Phonological, Morphological, and Pomological Characteristics of Some Nectarine Cultivars and Genotypes under Khorasan Razavi Province Climatic Conditions. Journal of Horticultural Science 36(1): 87-101. (In Persian with English abstract)
DOI: 10.22067/JHS.2021.68236.1012

Introduction

Nectarine (*Prunus persica* L. Bath) belongs to Rosaceae family, Prunoidae subfamily, and Prunus genus. This fruit is generated by a vegetative mutation in one of the peach genes. Therefore, it is a kind of peach that has been developed due to the mutation of the fruit with special aroma, color, and taste. Nectarine had about 10.1% of the total distribution of stone fruits in Iran. In Khorasan Razavi province, the production and yield of nectarine were 5412.7 tons and 6243 kg/ha in 2018, respectively. Due to the lack of sufficient research on different nectarine cultivars in Khorasan Razavi province and farmers' lack of access to new and high yielding cultivars, and the use of unknown low-quality cultivars with low marketability and yield, the present study aims to investigate morphological, pomological, and qualitative responses of 10 nectarine cultivars and genotypes in Khorasan Razavi province climatic conditions were performed to select promising cultivars and genotypes.

Materials and Methods

This study was conducted to select the best genotypes in terms of growth, morphological, and pomological traits from among ten nectarine genotypes and cultivars (‘Flamino’, ‘Nectared’, ‘Henri’, ‘Shaniaria’, ‘Royziana’, ‘Taj No.-1 and -2’, ‘Shalil No.-1’, ‘Andrros’, and ‘Sungold’ as a control) as a randomized complete block experiment with three replications during 2018-2019 in Agricultural and Natural Resources Research and Education Center of Khorasan Razavi. The traits measured in the present study are flowering start time, flowering period, harvest time, tree height, and diameter, yield, length, width, and weight of fruit and length, width, and weight of the stone, acidity, titratable acidity, soluble solids, fruit tissue firmness, and flavor index.

Results and Discussion

Results indicated that the cultivars and genotypes showed significant differences in terms of phenological traits (first bloom, full bloom, flowering time, flowering period, and harvest time), morphological (tree height, trunk diameter), pomological (yield, length, width, and weight of fruit and length, width, and weight of stone) and quality (acidity, titratable acidity, soluble solids, fruit tissue firmness, and flavor index). The earliest flowering genotypes were ‘Nectared’, ‘Flamino’, and ‘Sungold’, while ‘Henri’ and ‘Taj No.-1’ were the latest flowering. ‘Henri’, which had the most extended flowering period, showed a later harvest time. The panel test results showed that ‘Flamino’, ‘Henri’, and ‘Shaniaria’ had the highest rank in terms of color, texture, smell, and taste. While ‘Royziana’ had the lowest average. ‘Flamino’ had the highest chlorophyll index (36.91), which was

1 and 3- Ph.D. Student and Assistant Professor, Department of Horticultural Sciences (Breeding and Physiology), Bojnord Branch, Islamic Azad University, Bojnord, Iran, respectively.
2- Associate Professor, Crop and Horticultural Science Research Department, Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Mashhad, Iran
(*- Corresponding Author Email: e.ganji@areeo.ac.ir)

not significantly different from the ‘Nectared’, ‘Henri’, ‘Shaniaria’, ‘Taj No. -1 and -2’. ‘Henri’ genotype with 44.6 kg yield, 3.55 kg/cm^2 fruit tissue firmness, and 16.39% soluble solids showed statistical superiority in quality traits. ‘Flamino’ and ‘Shahlil-1’, with 138.76 and 129.51 g, respectively, had the highest fruit weight, increasing 32.97 and 28.19% compared to the control. In the second year, due to more growth and increasing the age of the tree naturally, increased tree height (22.41%), trunk diameter (79.8%), crown of the tree (73.3%), chlorophyll index (5.16%), fruit weight (35.06%), and fruit flavor index (28.46%) were observed compared to the first year. Tree yield was positively and significantly correlated with tree height and fruit tissue firmness and negatively and significantly correlated with fruit length, fruit width, and stone length. Tree height, crown of the tree, fruit width, stone weight, and fruit weight entered the regression model, finally explaining 55.91% of the tree yield changes.

Conclusion

In general, ‘Flamino’, ‘Nectared’, and ‘Henri’ are recommended for cultivation in Khorasan Razavi province's climatic conditions due to their high pomological and phonological traits as superior nectarine genotypes.

Keywords: Chlorophyll index, Flowering period, Fruit flavor index, Panel test

نشریه علوم باغبانی
https:// jhs.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۶، شماره ۱، بهار ۱۴۰۱، ص ۱۰۱-۸۷

ارزیابی خصوصیات فنولوژیک، مورفولوژیک و پومولوژیک برخی از ارقام و ژنوتیپ‌های شلیل در شرایط اقلیمی استان خراسان رضوی

آمنه قهرمانی[۱]- ابراهیم گنجی مقدم[۲*]- علی مرجانی[۳]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۱/۲۰
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۲/۲۶

چکیده

یکی از مشکلات عمده پرورش‌دهندگان شلیل عدم دسترسی به ارقام جدید و پر محصول و استفاده از ارقام ناشناخته است که میزان تولید، بازارپسندی و کیفیت محصول آن‌ها کم می‌باشد. این پژوهش به‌منظور مقایسه، گروه‌بندی و انتخاب ژنوتیپ‌های برتر از نظر صفات رشدی، مورفولوژیک و پومولوژیک ۱۰ ژنوتیپ و رقم شلیل ('فلامینو'، 'نکتارد'، 'هنری'، 'شانیاریا'، 'رویزیانا'، 'تاج شماره-۱ و -۲'، 'شلیل شماره-۱'، 'آندروس' و 'سان‌گلد' به‌عنوان شاهد) به‌صورت آزمایش بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در سال‌های ۱۳۹۸-۱۳۹۷ در مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی اجرا شد. ارقام و ژنوتیپ‌های مورد بررسی از نظر صفات فنولوژیک، مورفولوژیک، پومولوژیک و بیوشیمیایی تفاوت معنی‌داری نشان دادند. زودگل‌ترین ارقام شلیل، 'فلامینو'، 'نکتارد' و 'سان‌گلد' (هفته چهارم اسفند) و 'هنری' و 'تاج شماره-۲' دیرگل‌ترین (هفته اول فروردین) بودند. نتایج تست پانل نشان داد که 'فلامینو'، 'هنری' و 'شانیاریا' دارای بالاترین رتبه از نظر میانگین حسی صفات رنگ، بافت، بو و طعم بودند. 'فلامینو' دارای بیشترین سبزینگی برگ (۳۶/۹۱) بود. 'هنری' با ۴۴/۶ کیلوگرم عملکرد، ۳/۵۵ کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع سفتی بافت میوه و ۱۶/۳۹ درصد مواد جامد محلول از نظر صفات بیوشیمیایی، برتری آماری نشان داد. 'فلامینو' و 'شلیل شماره-۱' به‌ترتیب با میانگین ۱۳۸/۷۶ و ۱۲۹/۵۱ گرم، بیشترین وزن میوه را داشتند که در مقایسه با شاهد افزایش ۳۲/۹۷ و ۲۸/۱۹ درصدی نشان دادند. در مجموع 'فلامینو'، 'نکتارد' و 'هنری' به دلیل داشتن صفات پومولوژیک و فنولوژیک بالا به‌عنوان ارقام برتر شلیل برای کشت در شرایط اقلیمی استان خراسان رضوی قابل توصیه می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: تست پانل، دوره گلدهی، سبزینگی برگ، شاخص طعم میوه

مقدمه

شلیل با نام انگلیسی Nectarine و نام علمی *Prunus persica* L. Bath، از خانواده گل‌سرخیان (Rosaceae)، زیر خانواده پرونوییده (Prunoidae) و جنس پرونوس (*Prunus*) می‌باشد. این میوه در اثر جهش رویشی در یکی از ژن‌های هلو، به وجود آمده است. بنابراین، نوعی هلو محسوب شده که در اثر جهش کرک روی میوه از بین رفته و عطر، رنگ و طعم خاصی در آن به وجود آمده است (Fathi *et al*., 2012). میوه شلیل منبع خوبی از ترکیبات فعال زیستی بوده که دارای مزایای زیادی برای سلامتی انسان می‌باشد. گزارش شده است که این میوه حاوی تعدادی از ترکیبات فنلی، از جمله کاتچین (catechin)، اسیدهای کلروژنیک (chlorogenic) و نئوکلروژنیک (neochlorogenic)، اپی‌کاتچین (epicatechin) و مشتقات سیانیدینگ (cyaniding) و کوئرستین (quercetin) هستند (Jung *et al*., 2020). براساس پژوهش‌های پیشین، این درخت میوه در عرض جغرافیایی ۵۰ درجه شمالی و جنوبی رشد می‌نماید و در عرض‌های بالاتر، اندام رویشی و زایشی این درختان در اثر سرما از بین می‌روند. بسته به نوع رقم و ژنوتیپ، به‌منظور برطرف شدن خواب

۱ و ۳- به‌ترتیب دانشجوی دکتری و استادیار، گروه علوم باغبانی (اصلاح و فیزیولوژی)، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بجنورد، بجنورد، ایران
۲- دانشیار بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ایران
(*- نویسنده مسئول: Eamil: e.ganji@areeo.ac.ir)
DOI: 10.22067/JHS.2021.68236.1012

فیزیولوژیکی به ۴۰۰ الی ۱۰۰۰ ساعت سرما بین صفر تا هفت درجه سانتی‌گراد نیاز دارند (Fathi *et al.*, 2012). براساس آخرین آمارنامه کشاورزی، شلیل حدود ۱۰/۱ درصد از توزیع سطح کل میوه‌های هسته‌دار را در کشور دارا بود (رتبه چهارم بعد از هلو، زردآلو و گیلاس) و از نظر میزان تولید، رتبه سوم بعد از هلو و زردآلو را داشت. بر اساس همین اطلاعات، کل سطح زیر کشت شلیل در کشور ۲۷۳۸۸/۵ هکتار، با میزان تولید ۳۲۳۵۶۹/۹ تن و عملکرد ۲۲۷۱۶ کیلوگرم در هکتار ثبت شد. در استان خراسان رضوی، میزان تولید و عملکرد شلیل به‌ترتیب ۵۴۱۲/۷ تن و ۶۲۴۳ کیلوگرم در هکتار در سال ۱۳۹۶ ثبت گردیده است که از نظر میزان تولید رتبه پنجم و از نظر عملکرد رتبه یازدهم در کشور را داشت.

گروه‌بندی ارقام و ژنوتیپ‌های مختلف براساس خصوصیات مورفولوژیک و پومولوژیک اطلاعات مفیدی در مورد روابط بین ارقام و ژنوتیپ‌ها برای اصلاح‌گران و مدیران بانک‌های ژن گیاهی فراهم می‌نماید (Najafzadeh and Arzani, 2016). مطالعات پومولوژیکی معمولاً ویژگی کیفی میوه مانند رنگ، استحکام، جذابیت و بازارپسندی را در بر می‌گیرد در حالی که ارزیابی‌های مورفولوژیک، معمولاً ویژگی‌های رشد گونه را مورد مطالعه قرار می‌دهند و اولویت مصرف‌کنندگان بیشتر میوه‌هایی با اندازه یکنواخت، ظاهر مناسب، سالم و دارای ترکیبات غذایی استاندارد می‌باشد. براساس اطلاعات فائو انتخاب صفات شاخص در مورد ژنوتیپ و فنوتیپ درختان میوه به‌منظور تولید ارقام متناسب با نیاز مصرف‌کنندگان از اهمیت فراوانی برخوردار است (ASIA, 2013). در شرایط کنونی عمده برنامه‌های اصلاحی شلیل که مبتنی بر رضایت باغداران و مصرف‌کنندگان است، رنگ، اندازه و طعم میوه و کیفیت بافت می‌باشند (Byrne, 2003). یافته‌های پژوهش‌های پیشین نشان داد که صفاتی همچون محتوای قند و مواد فیتوشیمیایی و اندازه و رنگ میوه به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر شرایط محیطی و ژنوتیپ گیاه قرار می‌گیرند (I-Forcada *et al.*, 2014). انتخاب ژنوتیپ یا رقم مطلوب برای کشت در یک منطقه علاوه بر ویژگی‌های پومولوژیک، مورفولوژیک و بیوشیمیایی، به شرایط اقلیمی، حساسیت به بیماری، زمان برداشت و بازارپسندی بستگی دارد. به همین جهت، انتخاب رقم یا ژنوتیپ مناسب برای تولید اساساً تحت تأثیر نیازهای مصرف‌کنندگان است (Fathi *et al.*, 2012; Molaie *et al.*, 2017). در پژوهشی به‌منظور انتخاب بهترین ارقام شلیل در شرایط اقلیمی مشکین‌شهر، ارقام شلیل از نظر صفات رویشی، زایشی و خصوصیات کمی و کیفی میوه تفاوت معنی‌داری نشان دادند و ارقام امیدبخش برای اصلاح و جایگزینی در باغات شلیل منطقه شامل 'استاردگلد'، 'استارک‌سنگو'، 'ایندیپندنس' و 'وینبرگر' گزارش شدند (Fathi *et al.*, 2012). گزارش شده است به‌دلیل حساسیت بالای شلیل به سرمای دیررس بهاره (به‌خاطر زودگل بودن) مطالعات سازگاری برای کشت آن‌ها در منطقه از اهمیت فوق‌العاده‌ای برخوردار است (Karami and Nejad, 2013). در گزارشات مختلفی ارقام و ژنوتیپ‌های با عملکرد کمی و کیفی بالا برای مناطق مختلف گزارش شده است که از آن جمله می‌توان به ارقام 'سانکینگ'، 'ایندیپندانس'، 'استارک‌سان‌گلد' و 'فانتاسیا' برای منطقه بلگراد یوگسلاوی (Rahovic, 1996)، رقم 'سان' در منطقه دانشگاه فلوریدا (Sherman and Lyrene, 2002)، ارقام 'سانکینگ'، 'ایندیپندانس'، 'استارک سانگلو' و 'استاردگلد' برای منطقه مغان (Fathi *et al.*, 2012) و ارقام 'ایندیپندنس'، ' نکتارد-۶'، 'سانکینگ'، 'سان‌گلد'، 'سفید مشهد' و 'گیوتا' برای منطقه اصفهان (Ghasemi, 2001) اشاره کرد. با توجه به نبود تحقیقات کافی در زمینه ارقام مختلف شلیل در استان خراسان رضوی و عدم دسترسی کشاورزان به ارقام جدید و پر محصول و استفاده از ارقام ناشناخته با کیفیت پایین به همراه بازارپسندی و عملکرد کم، پژوهش حاضر با هدف بررسی پاسخ‌های مورفولوژیک، پومولوژیک و بیوشیمیایی ۱۰ رقم و ژنوتیپ شلیل در شرایط اقلیمی استان خراسان رضوی به‌منظور انتخاب ارقام و ژنوتیپ‌های امیدبخش اجرا شد.

مواد و روش‌ها

محل اجرای طرح و تیمارهای آزمایش

به‌منظور بررسی پاسخ‌های فنولوژیک، مورفولوژیک و پومولوژیک ارقام و ژنوتیپ‌های شلیل ('فلامینو'، 'نکتارد'، 'هنری'، 'شانیاریا'، 'رویزیانا'، 'تاج شماره-۱ و -۲'، 'شلیل شماره-۱'، 'آندروس' و 'سان‌گلد') در شرایط اقلیمی خراسان رضوی، آزمایشی به‌صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار که در آن هر واحد آزمایشی شامل سه درخت با قدرت رشد یکسان و سن مشابه چهارساله در نظر گرفته شده بود، در طی دو سال زراعی ۹۸-۱۳۹۷ و ۹۷-۱۳۹۶ اجرا گردید. پژوهش حاضر در مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی با طول جغرافیایی ۵۹/۶ درجه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۶/۲ درجه شمالی و ارتفاع ۱۱۷۶ متری از سطح دریا با اقلیم معتدل با میانگین بارندگی ۲۲۵/۸ میلی‌متر مورد بررسی قرار گرفت. خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک محل پژوهش در جدول ۱ ارائه شده است. این پژوهش در درختان چهارساله پیوندی بر روی پایه بذری شلیل با فواصل کاشت ۵×۴ متر مورد اجرا قرار گرفت. آبیاری درختان به روش قطره‌ای و تمامی ارقام و ژنوتیپ‌ها در طول دوره تحقیق، از نظر شرایط محیطی و مدیریت باغ در شرایط کاملاً یکنواخت و یکسان قرار داشتند و ضمن انجام مراقبت‌های لازم همچون سم‌پاشی، آبیاری، کوددهی، پاجوش‌زنی و غیره، درختان به فرم جامی تربیت شدند. در این پژوهش چهار دسته صفات فنولوژیک، مورفولوژیک، پومولوژیک و بیوشیمیایی اندازه‌گیری شدند.

اندازه‌گیری صفات فنولوژیک و تست پانل

صفات فنولوژیک از قبیل زمان شروع گلدهی، مرحله تمام گل (به‌ترتیب ۱۰ و ۷۵ درصد از گل‌ها باز شدند) (Fathi *et al.*, 2012) و دوره گلدهی برای هر یک از ارقام و ژنوتیپ‌ها به‌طور میانگین دوساله اندازه‌گیری شد. زمان رسیدن میوه وقتی بود که یک سوم از میوه‌ها، آماده برداشت شدند. تست پانل (ارزیابی حسی) نمونه میوه ارقام و ژنوتیپ‌های مختلف با حضور شش نفر در طی دو سال مورد ارزیابی قرار گرفت به‌طوری‌که برای هر نمونه اعداد یک تا پنج در نظر گرفته شد که در آن عدد یک برای بسیار بد و عدد پنج برای بسیار خوب بودند. در نهایت پذیرش کلی از میان‌گیری میانگین چهار پارامتر رنگ، طعم، بافت و بو محاسبه گردید (Farhadi *et al.*, 2009).

جدول ۱- خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک ایستگاه تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی مشهد (طرق)

Table 1- The soil physicochemical properties of Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research Center (Toroq)

اسیدیته pH	هدایت الکتریکی EC	ماده آلی OC	نیتروژن N	فسفر P	پتاسیم K	منیزیم Mg	رس Clay	سیلت Silt	شن Sand	بافت Texture
-	$dS.m^{-1}$	(%)	(%)	(ppm)	(ppm)	(ppm)	(%)	(%)	(%)	–
7.7	2.44	0.37	0.03	8.14	241	2.79	18	42	39	لوم شنی Sandy-loam

اندازه‌گیری صفات مورفولوژیک

در انتهای فصل رشد، خصوصیات مورفولوژیک از قبیل ارتفاع درخت (از سطح خاک تا بالاترین سطح تاج پوشش بر حسب متر)، عرض تاج (بر مبنای عرض سایه‌انداز بر حسب سانتی‌متر)، قطر تنه (با استفاده از کولیس از محل ده سانتی‌متری پیوند)، سبزینگی برگ (با استفاده از کلروفیل‌متر دستی یا اسپد) و حجم کل تاج درخت (بر مبنای اندازه ارتفاع و پهنای آن برای درختی که ارتفاع آن بیش از پهنای آن است، به‌صورت فرمول ۱ و برای درختی که پهنای آن بیش از ارتفاع آن است، به‌صورت فرمول ۲) اندازه‌گیری شدند (Arzani *et al.*, 2008; Ganji-Moghadam, 2020).

فرمول (۱) $\frac{4}{3}\pi ab2$

فرمول (۲) $\frac{4}{3}\pi a2b$

که در آن: π: ۳/۱۴۱۶، a: نصف قطر بزرگ و b: نصف قطر کوچک است.

اندازه‌گیری صفات پومولوژیک

به‌منظور اندازه‌گیری ویژگی‌های پومولوژیک ۱۰ میوه به‌طور تصادفی از هر درخت انتخاب و صفاتی همچون طول و عرض میوه (با استفاده از کولیس دیجیتال)، وزن تک میوه (با استفاده از ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۱)، طول و عرض هسته (با استفاده از کولیس دیجیتال) و وزن هسته (با استفاده از ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۱) اندازه‌گیری شد (Ganji-Moghadam, 2020). عملکرد میوه نیز با برداشت تمامی میوه‌های هر درخت به‌صورت جداگانه و میانگین‌گیری از سه نمونه به‌صورت کیلوگرم برای هر درخت محاسبه گردید.

اندازه‌گیری صفات بیوشیمیایی

به‌منظور اندازه‌گیری برخی صفات بیوشیمیایی، تعداد ۱۵ میوه در هر تکرار از هر رقم به‌تصادف انتخاب و صفات pH، اسیدیته قابل تیتراسیون، مواد جامد محلول، سفتی بافت میوه و شاخص طعم میوه بر طبق پروتکل‌های زیر انجام شد. اسیدیته میوه (pH) با pHمتر (Metrohm، مدل ۷۴۴، ساخت سوئیس) در دمای اتاق (۱۸-۲۳ درجه سانتی‌گراد) تعیین گردید. اسید کل میوه هر رقم بر اساس اسید مالیک (اسید غالب میوه شلیل) با روش تیتراسیون عصاره میوه با استفاده از سود ۰/۱ نرمال اندازه‌گیری و اسید قابل تیتراسیون بر حسب درصد برای هر رقم بیان گردید (Rahmati *et al.*, 2014). مواد جامد محلول کل (TSS) توسط رفراکتومتر قابل حمل (مدل ۹۷۰۳، ساخت ژاپن) اندازه‌گیری و به‌صورت درصد (Brix) بیان شد (Arzani *et al.*, 2008). سفتی بافت میوه توسط سفتی سنج (پنترومتر مدل FT, 011, Italia) در هر دو طرف میوه بعد از حذف پوست اندازه‌گیری شد (Abdollahi *et al.*, 2019). شاخص طعم میوه از تقسیم میزان مواد جامد محلول به اسیدیته قابل تیتراسیون محاسبه گردید (Abedi *et al.*, 2020).

تجزیه و تحلیل آماری

بعد از جمع‌آوری داده‌ها، نرمال‌سازی داده‌ها با استفاده از آزمون‌های Kolmogorov-Smirnov و ShapiroWilk test توسط نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۲ تست شد. تجزیه مرکب در سال (طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار) با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۲ انجام شد و مقایسه میانگین با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد

صورت گرفت. همبستگی ساده (پیرسون) بین صفات از میانگین داده‌های دو سال، با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۲ صورت گرفت که در آن همبستگی مثبت با رنگ آبی و همبستگی منفی با رنگ قرمز مشخص شده است که افزایش شدت رنگ نشان از افزایش ضریب همبستگی است و ضرایب غیر معنی‌دار در آن ارائه نشده است. تجزیه رگرسیونی گام به گام که در آن عملکرد میوه به‌عنوان صفت وابسته و سایر صفات اندازه‌گیری شده به‌عنوان صفات مستقل در نظر گرفته شد، با استفاده از نرم‌افزار Minitab انجام شد.

نتایج و بحث

صفات فنولوژیک

میانگین دو ساله اعداد مربوط به فنولوژی ارقام مختلف در جدول ۲ ارائه شده و نتایج به دست آمده حاکی از تفاوت ارقام و ژنوتیپ‌های شلیل از نظر تاریخ شروع گلدهی، تمام‌گل، پایان گلدهی، دوره گلدهی و زمان برداشت می‌باشد. 'فلامینو'، 'نکتارد' و 'سان‌گلد' زودگل‌ترین ارقام (هفته چهارم اسفند) بودند و 'هنری' و 'تاج شماره- ۲' دیرگل‌ترین (هفته اول فروردین) بودند. زودگلدهی بسته به شرایط اقلیم منطقه مورد کشت می‌تواند صفت مطلوب یا محدود کننده باشد، به‌طور مثال در مناطق معتدله، زودگلدهی صفت محدود کننده است در حالی که در مناطق مدیترنه‌ای این صفت مطلوب می‌باشد (Dirlewanger *et al.*, 2006). در همین راستا، طول دوره گلدهی یکی از مهم‌ترین صفات در درختان میوه به‌خصوص هلو و شلیل می‌باشد. نتایج نشان داد که 'نکتارد' و 'رویزیانا' به‌ترتیب با ۱۳ و ۱۴ روز، کمترین طول دوره گلدهی را داشت. از طرف دیگر، 'هنری' و 'شانیاریا' با طول دوره گلدهی ۲۰ روزه، بیشترین دوره گلدهی را به خود اختصاص دادند. در پژوهش حاضر، 'هنری' که دارای طولانی‌ترین دوره گلدهی بود، زمان برداشت دیرتری را نشان داد. به‌بیان دیگر، دوره گلدهی طولانی منجر به تاریخ برداشت دیرتر شد ولی این موضوع در مورد 'شانیاریا' که دارای دوره گلدهی طولانی بود، صدق نکرد. سسارلی و همکاران (Ceccarelli *et al.*, 2016) و فتحی و همکاران (Fathi *et al.*, 2012) گزارش کردند که مراحل فنولوژی و همچنین صفات رشد رویشی در ارقام و ژنوتیپ‌های مختلف هلو و شلیل متفاوت می‌باشد که هم‌راستا به یافته‌های پژوهش حاضر بود. به نظر می‌رسد مراحل فنولوژیکی درختان میوه از جمله دوره رشد میوه و زمان برداشت، صفت کمی بوده و به‌صورت ژنتیکی کنترل می‌گردد و این در ارقام و ژنوتیپ‌های مختلف متفاوت می‌باشد (Cantin Mardones *et al.*, 2010; Reig *et al.*, 2015). فتحی و همکاران (Fathi *et al.*, 2012) در پژوهشی بر روی ۱۱ ژنوتیپ شلیل در منطقه مشکین‌شهر گزارش کرد که زودرس‌ترین رقم 'سانکینگ' در ۲۰ تیرماه و دیررس‌ترین رقم 'قرمز پاییزه مشهد' در اول شهریورماه بود. بایرن (Byrne, 2003) گزارش کرد که تنوع در زمان برداشت در مورد ارقام و ژنوتیپ مختلف از جهت پوشش بازار مصرف از اهمیت فوق‌العاده‌ای برخوردار است.

جدول ۲- میانگین دوساله (۱۳۹۸-۱۳۹۷) تاریخ گلدهی، دوره گلدهی و زمان برداشت ارقام و ژنوتیپ‌های مورد مطالعه شلیل در شرایط اقلیمی خراسان رضوی

Table 2- Two-years average (2018-2019) of flowering date, flowering period, and harvest time of nectarine cultivars and genotypes studied under Khorasan Razavi climate conditions

ژنوتیپ‌ها و ارقام Genotypes and cultivars	شروع گلدهی First bloom	تمام گل Full bloom	پایان گلدهی End of flowering	دوره گلدهی Flowering period (day)	زمان برداشت Harvest time
'Flamino' 'فلامینو'	12/27	01/03	01/13	16	05/13
'Nectared' 'نکتارد'	12/28	01/03	01/12	14	05/06
'Henri' 'هنری'	01/03	01/08	01/23	20	06/09
'Shaniaria' 'شانیاریا'	01/02	01/05	01/22	20	05/19
'Royziana' 'رویزیانا'	01/02	01/06	01/15	13	05/28
'Taj-1' 'تاج شماره ۱'	01/02	01/05	01/17	15	05/11
'Taj-2' 'تاج شماره ۲'	01/03	01/05	01/18	15	05/16
'Shalil-1' 'شلیل ۱'	01/01	01/04	01/16	15	05/19
'Andrros' 'آندروس'	12/29	01/03	01/16	17	05/20
'Sungold' 'سان‌گلد'	12/28	01/04	01/15	18	05/05

در پژوهش حاضر تاریخ برداشت از پنجم مرداد تا نهم شهریور متغیر بود. طول دوره رشد میوه برخلاف زمان گلدهی که تحت تأثیر عوامل محیطی از جمله دما ممکن است قرار گیرند، برای هر ژنوتیپ ثابت می‌باشد (Fathi *et al.*, 2012). در پژوهش حاضر طول دوره رشد میوه ۱۵۷ تا ۱۸۶ روز متغیر بود که رقم 'سان‌گلد' کمترین طول دوره رشد میوه (۱۵۷ روز) و رقم 'هنری' بیشترین طول دوره رشد میوه (۱۸۶ روز) را داشت (جدول ۲).

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس مرکب اثر ژنوتیپ بر خصوصیات مورفولوژیک، پومولوژیک و فیزیولوژیک شلیل در شرایط اقلیمی خراسان رضوی (۱۳۹۸-۱۳۹۷)

Table 3- Compound variance analysis of the effect of genotype on morphological, pomological, and physiological characteristics of nectarine under Khorasan Razavi climate conditions (2018-2019)

منابع S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean square (MS)							
		ارتفاع درخت Tree height	قطر تنه Trunk diameter	حجم تاج درخت Crown volume	سبزینگی برگ Chlorophyll index	عملکرد Yield	طول میوه Fruit length	عرض میوه Fruit width	وزن میوه Fruit weight
سال Year (Y)	1	50913.4**	3602.3**	125655.6**	18.62 ns	2.79 ns	0.70 ns	77.27 ns	19343.9**
خطا Error (1)	4	969.6	13.60	4072.0	12.58	5.62	37.5	40.15	127.0
ژنوتیپ Genotype (G)	9	2947.5**	16.41**	4035.1**	16.86**	446.2**	188.3**	190.3**	5526.8**
Y × G	9	2542.9**	15.51**	4098.9**	1.73 ns	7.78 ns	30.22**	54.50**	1477.5**
خطای کل Total error	36	260.5	0.51	186.1	5.36	10.73	8.21	10.72	91.09
ضریب تغییرات CV (%)	-	6.98	6.13	17.28	6.74	13.91	6.08	6.75	11.30

	درجه آزادی df	طول هسته Stone length	عرض هسته Stone width	وزن هسته Stone weight	اسیدیته pH	اسیدیته قابل تیتراسیون Titratable acidity	مواد جامد محلول Soluble solids	سفتی بافت Fruit tissue firmness	شاخص طعم میوه Flavor index
سال Year (Y)	1	155.8*	230.7*	3.29 ns	0.047 ns	1.47**	9.07ns	0.58 ns	267.9**
خطا Error (1)	4	11.55	13.03	1.48	0.028	0.012	2.49	0.07	10.55
ژنوتیپ Genotype (G)	9	64.58**	41.33**	8.97**	0.237**	0.36**	4.68**	6.41**	43.72**
Y × G	9	99.51**	61.19**	2.64**	0.083**	0.26**	12.14**	0.100 ns	15.33**
خطای کل Total error	36	4.54	5.39	0.28	0.017	0.014	0.56	0.056	3.33
ضریب تغییرات CV (%)	-	6.73	9.32	8.33	4.28	9.20	4.89	16.33	14.47

ns، * و ** : به‌ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد

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

صفات مورفولوژیک

نتایج تجزیه و تحلیل داده‌های آزمایش نشان داد که ارتفاع درخت، عرض تاج و قطر تنه و حجم تاج درخت تحت تأثیر سال، ژنوتیپ و اثر متقابل سال در ژنوتیپ تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد نشان دادند (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین بین دو سال اجرای پژوهش نشان داد که در سال دوم به دلیل رشد بیشتر و افزایش سن درخت به‌صورت طبیعی، افزایش ارتفاع درخت (۲۲/۴۱ درصد)، قطر تنه (۷۹/۸ درصد) و حجم تاج درخت (۷۳/۳ درصد) نسبت به سال اول مشاهده شد (جدول ۴).

نتایج نشان داد که میزان رشد رویشی در سال‌های مختلف متفاوت است، این اختلافات در صفات رویشی درختان در ارقام شلیل براساس پژوهش‌های قبلی، یک پدیده عادی محسوب می‌شود و دوره رشد در ارقام شلیل هم متفاوت گزارش شده است (Fathi *et al.*, 2012). در اوایل رشد پس از کاشت، حجم ریشه کوچک بوده و درختان در مراحل اولیه رشد و اسکلت‌بندی هستند و به علت کوچک بودن ابعاد و حجم تاج درختان مقدار صفات رویشی اندازه‌گیری شده پایین می‌باشد اما با گذشت زمان و تثبیت ریشه‌های درختان ابعاد حجم تاج، قطر تنه و ارتفاع درختان افزایش می‌یابد و به دنبال آن هم بر سطح باردهی درخت و هم بر حجم کل درخت افزوده می‌شود. نتایج مشابهی در پژوهش‌های قبلی، هم‌راستا با یافته‌های این پژوهش گزارش شده است (Fathi *et al.*, 2012; Layne, 1997).

جدول ۴- اثر سال بر صفات مورفولوژیک و پومولوژیک ژنوتیپ و ارقام شلیل در شرایط اقلیمی خراسان رضوی (۱۳۹۸-۱۳۹۷)

Table 4- The effect of different years on morphological and pomological characteristics of nectarine genotypes and cultivars under Khorasan Razavi climatic conditions (2018-2019)

سال Year	ارتفاع درخت Tree height (cm)	قطر تنه Trunk diameter (cm)	حجم تاج درخت Crown volume (m^3)	وزن میوه Fruit weight (g)	طول هسته Stone length (mm)	عرض هسته Stone width (mm)	اسیدیته قابل تیتراسیون Titratable acidity	شاخص طعم Flavor index
سال اول (۱۳۹۷) First year (2018)	201.64 b	3.9 b	0.331 b	66.5 b	33.27 a	26.86 a	1.45 a	10.63 b
سال دوم (۱۳۹۸) Second year (2019)	259.9 a	19.4 a	1.247 a	102.41 a	30.05 b	22.94 b	1.14 b	14.86 a
LSD (0.05%)	8.44	0.37	0.71	4.99	1.11	1.21	0.06	0.39

حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد طبق آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

Non-identical letters indicate significant difference at 5% of probability level according to LSD test.

براساس نتایج مقایسه میانگین بین ارقام و ژنوتیپ‌ها، بیشترین میانگین ارتفاع درخت (۲۵۷/۲۵ و ۲۵۴/۰۳ سانتی‌متر)، قطر تنه (۱۴/۱۸ سانتی‌متر) و حجم تاج درخت (۱/۱۶۱ مترمکعب) به‌ترتیب در 'هنری'، 'تاج شماره-۱'، 'شلیل شماره-۱' و 'شلیل شماره-۱' به دست آمد که در مقایسه با شاهد ('سان‌گلد') افزایش ۱۲/۷۶، ۱۸/۵۰، ۲۱/۸۶ و ۴۵/۲۸ درصدی داشتند. نتایج نشان داد که 'رویزیانا' کمترین میانگین ارتفاع درخت (۱۸۸/۶۷ سانتی‌متر)، قطر تنه (۹/۲۸ سانتی‌متر) و حجم تاج درخت (۰/۳۹۴ متر مکعب) را در بین ارقام داشت (جدول ۵). سایر پژوهشگران گزارش کردند که صفات رویشی از قبیل ارتفاع درخت و گسترش تاج علاوه بر پایه به رقم و ژنوتیپ کشت شده نیز بستگی دارد (Fathi *et al.*, 2012; Layne, 1997). سبزینگی برگ (شاخص کلروفیل) تحت تأثیر ژنوتیپ و ارقام شلیل تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد نشان داد (جدول ۳). در بین ارقام و ژنوتیپ‌های مورد آزمایش، 'فلامینو' دارای بیشترین سبزینگی برگ (۳۶/۹۱) بود که با 'نکتارد'، 'هنری'، 'شانیاریا'، 'تاج شماره-۱ و -۲' تفاوت معنی‌داری نداشت. کمترین شاخص سبزینگی در شاهد ('سان‌گلد') با میانگین ۳۱/۲۹ مشاهده شد (جدول ۵). نجف‌زاده و ارزانی (Najafzadeh and Arzani, 2016) گزارش کردند که اندازه، بافت و رنگ برگ اثرات زیادی در میزان فتوسنتز، مقاومت به بیماری و آفات و سایر ویژگی درختان دارد. از طرف دیگر، سبزینگی برگ از ویژگی‌های ژنتیکی ارقام مختلف می‌باشد ولی می‌تواند تحت تأثیر عوامل اقلیمی و محیطی قرار گیرد. نتایج مشابهی در مورد درختان هلو (Cantin Mardones *et al.*, 2010)، شلیل (Fathi *et al.*, 2012) و گلابی (Najafzadeh and Arzani,

2016) مبنی بر تفاوت سبزینگی برگ در بین ارقام و ژنوتیپ‌ها گزارش شده است. محمدزاده و همکاران (Mohammadzadeh *et al.*, 2013) گزارش کردند که اغلب ژنوتیپ و ارقام زردآلو در ایران از نظر سبزینگی برگ و زمان گلدهی تفاوت معنی‌داری دارند.

جدول ۵- صفات مورفولوژیک، پومولوژیک و فیزیولوژیک ده ژنوتیپ و رقم شلیل در شرایط اقلیمی خراسان رضوی (۱۳۹۸-۱۳۹۷)

Table 5- The morphological, pomological, and physiological characteristics of 10 nectarine genotypes and cultivars under Khorasan Razavi climatic conditions (2018-2019)

ژنوتیپ یا رقم Genotype or cultivar	ارتفاع درخت Tree height (cm)	قطر تنه Trunk diameter (cm)	حجم تاج درخت Crown of the tree (m^3)	سبزینگی برگ Chlorophyll index	عملکرد Yield ($kg.tree^{-1}$)	طول میوه Fruit length (mm)	عرض میوه Fruit width (mm)
'Flamino' 'فلامینو'	245.33 ab	12.03 c	0.998 b	36.91 a	21.42 c	52.13 a	54.77 a
'Nectared' 'نکتارد'	210.92 d	9.78 ef	0.527 cd	36.08 ab	22.82 c	43.63 b	49.88 bc
'Henri' 'هنری'	257.25 a	13.06 b	0.960 b	35.81 abc	44.6 a	42.94 b	41.78 d
'Shaniaria' 'شانیاریا'	253.17 ab	13.0 b	1.029 ab	34.62a-d	22.54 c	52.76 a	52.33 ab
'Royziana' 'رویزیانا'	188.67 e	9.28 f	0.345 d	34.13 bcd	15.87 d	45.26 b	46.23c
'Taj-1' 'تاج شماره ۱'	254.03 a	10.45 de	0.658 c	34.23a-d	31.53 b	39.42 c	40.5 d
'Taj-2' 'تاج شماره ۲'	221.25 cd	10.51 de	0.616 c	34.4a-d	20.2 c	39.1 c	40.89 d
'Shalil-1' 'شلیل ۱'	218.33 cd	14.18 a	1.119 a	32.65de	21.35 c	51.23 a	52.93 ab
'Andrros' 'آندروس'	234.33 bc	13.1 b	1.041 ab	33.24 cde	19.82 c	51.76 a	51.34 ab
'Sungold' 'سان‌گلد'	224.42 cd	11.08 d	0.657 c	31.29 e	15.34 d	52.63 a	53.96 a
LSD (0.05%)	18.88	0.83	0.159	2.71	3.83	3.35	3.83

حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد طبق آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

Non-identical letters indicate significant difference at 5% of probability level according to LSD test.

صفات پومولوژیک

نتایج تجزیه واریانس داده‌های نشان داد که اثر ژنوتیپ بر عملکرد، طول و عرض میوه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. همچنین اثر متقابل سال در ژنوتیپ بر طول و عرض میوه معنی‌دار به دست آمد (جدول ۳). 'هنری' با عملکرد میوه ۴۴/۶ کیلوگرم دارای بالاترین میانگین بود که در مقایسه با 'سان‌گلد' (شاهد) افزایش ۶۵/۶ درصدی داشت. کمترین عملکرد میوه نیز در 'سان‌گلد' با میانگین ۱۵/۳۴ کیلوگرم مشاهده شد (جدول ۵). 'فلامینو'، 'شانیاریا'، 'شلیل شماره-۱'، 'آندروس' و 'سان‌گلد' (به‌ترتیب با میانگین ۵۲/۱۳، ۵۲/۷۶، ۵۱/۲۳، ۵۱/۷۶ و ۵۲/۶۳ میلی‌متر) دارای بیشترین طول میوه بودند در حالی که از این بین فقط دو رقم 'فلامینو' و 'سان‌گلد' دارای بیشترین عرض میوه (به‌ترتیب با ۵۴/۷۷ و ۵۳/۹۶ میلی‌متر) بودند (جدول ۵). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که ژنوتیپ‌های 'تاج شماره-۱ و -۲' دارای کمترین طول و عرض میوه بودند (جدول ۵). طول، قطر و نسبت این دو از مهم‌ترین صفات کمی و بیوشیمیایی در درختان میوه محسوب می‌گردد. همانند اکثر صفات مورفولوژیک و پومولوژیک، فرم ظاهری میوه تحت تأثیر شدید رقم یا ژنوتیپ و عوامل محیطی قرار می‌گیرد (Rezaee *et al.*, 2016).

جدول تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۳) نشان داد که وزن میوه تحت تأثیر سال، ژنوتیپ و سال در ژنوتیپ تفاوت معنی‌داری داشتند ($p\leq0.01$). در مقایسه میانگین اثر سال، وزن میوه در سال دوم افزایش ۳۵/۰۶ درصدی در مقایسه با سال اول نشان داد (جدول ۴). در مقایسه بین ارقام و ژنوتیپ‌ها، 'فلامینو'، و 'شلیل شماره-۱' به‌ترتیب با میانگین ۱۳۸/۷۶ و ۱۲۹/۵۱ گرم، بیشترین وزن میوه را داشتند که در مقایسه با شاهد افزایش ۳۲/۹۷ و ۲۸/۱۹ درصدی نشان دادند. از طرف دیگر، 'تاج شماره-۱ و -۲' و 'آندروس' کمترین وزن میوه (۵۲/۵۸، ۵۰/۳۵ و ۵۸/۷۳ گرم) را داشتند (جدول ۵). رضایی و همکاران (Rezaee *et al.*, 2016) گزارش کردند که وزن میوه علاوه بر اینکه یک ویژگی ژنتیکی است تحت تأثیر، عوامل اقلیم، نوع پایه، مدیریت باغ، مصرف آب و کود و بار نهایی درخت متغیر است.

نتایج نشان داد که طول و عرض هسته تحت تأثیر سال تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد داشتند (جدول ۳). براساس نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، در سال دوم اجرای آزمایش، کاهش معنی‌داری در طول و عرض هسته در مقایسه با سال اول (به‌ترتیب کاهش ۹/۶۷ و ۱۴/۵۹ درصدی) مشاهده شد (جدول ۴). اثر ژنوتیپ و همچنین اثر متقابل ژنوتیپ در سال بر طول، عرض و وزن هسته در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار به دست آمد (جدول ۳).

ادامه جدول ۵- صفات مورفولوژیک، پومولوژیک و فیزیولوژیک ده ژنوتیپ و رقم شلیل در شرایط اقلیمی خراسان رضوی (۱۳۹۸-۱۳۹۷)

Continued Table 5- The morphological, pomological, and physiological characteristics of 10 nectarine genotypes and cultivars under Khorasan Razavi climatic conditions (2018-2019)

ژنوتیپ یا رقم Genotype or cultivar	وزن میوه Fruit weight (g)	طول هسته Stone length (mm)	عرض هسته Stone width (mm)	وزن هسته Stone weight (g)	اسیدیته pH	اسیدیته قابل تیتراسیون Titratable acidity	مواد جامد محلول Soluble solids (%)	سفتی بافت Tissue firmness (kg/cm)	شاخص طعم Flavor index
‘Flamino’ ‘فلامینو’	138.76 a	33.43 b	24.1 cde	7.93 a	2.65 f	1.39 bc	14.58 ef	0.90 e	10.99 b
‘Nectared’ ‘نکتارد’	73.42 c	28.51 de	29.22 a	4.61 d	2.99 de	1.83 a	14.69 def	2.45 b	8.16 c
‘Henri’ ‘هنری’	95.48 b	26.44 e	20.84 f	7.78 a	3.15 bc	1.50 b	16.39 ab	3.55 a	11.55 b
‘Shaniaria’ ‘شانیاریا’	79.81 c	33.68 b	25.4 bcd	7.11 b	2.84 e	1.27 cd	14.23 f	0.83 e	12.26 b
‘Royziana’ ‘رویزیانا’	72.93 c	30.66 cd	23.32def	5.98 c	3.32 a	1.06 ef	17.02 a	0.92 e	16.16 a
‘Taj-1’ ‘تاج شماره ۱’	52.58 d	30.33 cd	22.32 ef	4.74 d	3.1 cd	1.16 de	15.74 bc	0.34 f	14.56 a
‘Taj-2’ ‘تاج شماره ۲’	50.35 d	29.13 d	23.33 def	4.99 d	3.1 bcd	1.07 ef	14.97 c-f	0.28 f	14.52 a
‘Shalil-1’ ‘شلیل ۱’	129.51 a	37.62 a	28.11 ab	6.62 b	3.15 bc	1.31 c	15.46 cd	1.25 d	12.17 b
‘Andrros’ ‘آندروس’	58.73 d	32.51 bc	26.79 abc	7.09 b	3.27 ab	1.33 c	15.42 cde	2.0c	11.74 b
‘Sungold’ ‘سان‌گلد’	93.0 b	34.32 b	25.55 bcd	6.7 b	3.05 cd	1.0 f	14.6 def	1.99 c	15.36 a
LSD (0.05%)	11.17	2.49	2.71	0.61	0.15	0.13	0.87	0.27	1.78

حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد طبق آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

Non-identical letters indicate significant difference at 5% of probability level according to LSD test

نتایج مقایسه بین ارقام و ژنوتیپ‌ها حاکی از برتری ’شلیل شماره-۱‘ (۳۷/۶۲ میلی‌متر) از نظر طول هسته، ’نکتارد‘ (۲۹/۲۲ میلی‌متر) از نظر عرض هسته و ’فلامینو‘ و ’هنری‘ (به‌ترتیب ۷/۹۳ و ۷/۷۸ گرم) از نظر وزن هسته بود. در حالی که کمترین طول هسته (۲۶/۴۴ میلی‌متر) و عرض هسته (۲۰/۸۴ میلی‌متر) در ’هنری‘ مشاهده شد. همچنین، ’نکتارد‘، ’تاج شماره-۱ و -۲‘ دارای کمترین وزن هسته (به‌ترتیب ۴/۶۱، ۴/۷۴ و ۴/۹۹ گرم) بودند (جدول ۵).

صفات بیوشیمیایی

اسیدیته میوه تحت تأثیر ژنوتیپ و سال در ژنوتیپ تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد نشان داد (جدول ۳). در بین ارقام و ژنوتیپ‌های مورد آزمایش، ’رویزیانا‘ بیشترین اسیدیته میوه با میانگین ۳/۳۲ بود که در مقایسه با ’سان‌گلد‘ (شاهد) افزایش ۸/۱۳ درصدی داشت. کمترین اسیدیته میوه مربوط به ’شانیاریا‘ با میانگین ۲/۸۴ بود (جدول ۵).

اسیدیته قابل تیتراسیون میوه‌ها از جمله ویژگی‌های مهم برای پذیرش میوه از سوی مصرف‌کننده می‌باشد (Falati *et al.*, 2019). نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر سال، ژنوتیپ و سال در ژنوتیپ در سطح احتمال ۱ درصد بر اسیدیته قابل تیتراسیون معنی‌دار بودند (جدول ۳). در سال اول آزمایش، میزان اسیدیته قابل تیتراسیون از میانگین بالاتری (۲۱/۳۷ درصد) در مقایسه با سال دوم برخوردار بود (جدول ۴). در بین ارقام و ژنوتیپ‌ها، بیشترین و کمترین اسیدیته قابل تیتراسیون به‌ترتیب در ’نکتارد‘ (۱/۸۳) و ’سان‌گلد‘ (۱/۰) مشاهده شد (جدول ۵). محتوی مواد جامد محلول (TSS) ویژگی مهمی در تعیین کیفیت میوه می‌باشد و TSS کمتر حاکی از سهم کم مواد جامد محلول در آب میوه بوده که منجر به مزه ترش میوه می‌شود (Falati *et al.*, 2019).

جدول تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۳) نشان داد که وزن میوه تحت تأثیر سال، ژنوتیپ و سال در ژنوتیپ تفاوت معنی‌داری داشتند ($p\leq0.01$). در مقایسه میانگین اثر سال، وزن میوه در سال دوم افزایش ۳۵/۰۶ درصدی در مقایسه با سال اول نشان داد (جدول ۴). در مقایسه بین ارقام و ژنوتیپ‌ها، ’فلامینو‘ و ’شلیل شماره-۱‘ به‌ترتیب با میانگین ۱۳۸/۷۶ و ۱۲۹/۵۱ گرم، بیشترین وزن میوه را داشتند که در مقایسه با شاهد افزایش ۳۲/۹۷ و ۲۸/۱۹ درصدی نشان دادند. از طرف دیگر، ’تاج شماره-۱ و -۲‘ و ’آندروس‘ کمترین وزن میوه (۵۲/۵۸، ۵۰/۳۵ و ۵۸/۷۳ گرم) را داشتند (جدول ۵). رضایی و همکاران (Rezaee *et al.*, 2016) گزارش کردند که وزن میوه علاوه بر اینکه یک ویژگی ژنتیکی است تحت تأثیر، عوامل اقلیم، نوع پایه، مدیریت باغ، مصرف آب و کود و بار نهایی درخت متغیر است. اثر ژنوتیپ و همچنین سال در ژنوتیپ بر TSS در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بودند (جدول ۳). ’رویزیانا‘ دارای بیشترین محتوی مواد جامد محلول (۱۷/۰۲ درصد) بود که با هنری در یک گروه آماری قرار داشت ولی با سایر ارقام تفاوت معنی‌داری نشان داد. کمترین TSS مربوط به ’شانیاریا‘ با میانگین ۱۴/۲۳ درصد بود (جدول ۵). پژوهشگران بیان داشتند که براساس نظر پژوهشگران از نظر

خصوصیات بیوشیمیایی میوه همچون TSS (مقدار قند) و اسید کل (اسیدهای آلی) تفاوت معنی‌داری در بین ارقام و ژنوتیپ درختان میوه مشاهده گردید (Rezaee *et al*., 2016 ,Fathi *et al*., 2012) که هم‌راستا با یافته‌های پژوهش حاضر بود. وابستگی عطر، طعم و شهد میوه به مقدار TSS منجر به افزایش اهمیت این صفت در تولید میوه گردیده است. محتوای TSS تحت تأثیر ژنتیک و شرایط محیطی قرار می‌گیرد و توسط آنزیم‌های مختلف کنترل می‌شود (Dabbou *et al*., 2016). نتایج مطالعات پیشین حاکی از تفاوت معنی‌دار مابین درختان میوه از جمله هلو و شلیل از نظر مقدار TSS بود (ASIA, 2013, Dabbou *et al*., 2016, Fathi *et al*., 2012, Hilaire, 2003) که یافته‌های پژوهش حاضر را تائید می‌نماید. در پژوهش حاضر محدوده تغییرات TSS مابین ۱۴/۲۳ تا ۱۷/۰۲ درصد بود که براساس بررسی منابع و مطالعات پیشین در محدوده گزارش شده برای میوه هلو و شلیل می‌باشد (Fathi *et al*., 2012).

از بین عوامل مورد آزمایش، اثر ژنوتیپ بر سفتی بافت میوه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود و اثر سایر عوامل غیرمعنی‌دار به دست آمد (جدول ۳). در مقایسه میانگین اثر اصلی ژنوتیپ، بیشترین سفتی بافت میوه مربوط به 'هنری' با میانگین ۳/۵۵ کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع بود که در مقایسه با شاهد افزایش ۴۳/۹۴ درصدی داشت. کمترین سفت بافت میوه در 'تاج شماره-۱ و -۲' به ترتیب با میانگین ۰/۳۴ و ۰/۲۸ کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع مشاهده شد (جدول ۵). سفتی بافت میوه یکی از خصوصیات بیوشیمیایی می‌باشد که عمدتاً تحت تأثیر ویژگی‌های ژنتیکی ارقام و ژنوتیپ‌ها قرار می‌گیرد ولی می‌تواند تحت تأثیر عوامل قبل و بعد از برداشت از قبیل رقم، تغذیه و سایر عملیات باغی قرار می‌گیرد. این ویژگی از نظر نقل و انتقال، انبارمانی و افزایش عمر میوه‌ها اهمیت فراوانی دارد (Rezaee *et al*., 2016). سفتی بافت میوه تا حدود زیادی به مرحله رسیدگی میوه و رقم یا ژنوتیپ بستگی داشته و یکی از عوامل مؤثر در آن بافت گوشت میوه می‌باشد (Falati *et al*., 2019).

براساس نتایج جدول ۳، شاخص طعم میوه تحت تأثیر سال، ژنوتیپ و اثر متقابل این دو تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد داشت. مقایسه میانگین اثر سال نشان داد که در سال دوم شاخص طعم میوه افزایش ۲۸/۴۶ درصدی در مقایسه با سال اول نشان داد (جدول ۴). در بین ارقام و ژنوتیپ‌ها، 'رویزیانا'، 'تاج شماره-۱ و -۲' و 'سان‌گلد' بیشترین میانگین این صفت را داشتند و کمترین شاخص طعم میوه مربوط به نکتارد با میانگین ۸/۱۶ بود (جدول ۵). نسبت مواد جامد محلول به اسید به‌عنوان شاخص طعم و کیفیت میوه بیان می‌گردد که نقش مهمی در بازارپسندی میوه از جمله شلیل و هلو دارد (Scorza *et al*., 2002). براساس بررسی منابع، شاخص طعم مطلوب در میوه‌ها مابین ۱۰ تا ۱۵ می‌باشد (Falati *et al*., 2019، Rahimkhani *et al*., 2016) که یافته‌های پژوهش حاضر نیز در این رنج عددی (۸/۱۶ تا ۱۶/۱۶) به دست آمد.

نتایج تست پانل نشان داد که 'فلامینو'،'هنری' و 'شانیاریا' دارای بالاترین رتبه از نظر میانگین حسی صفات رنگ، بافت، بو و طعم بودند و رویزیانا دارای پایین‌ترین میانگین بود (جدول ۶). نتایج نشان داد که رابطه قابل بررسی مابین طول دوره گلدهی و پذیرش کلی تست پانل وجود داشت به‌طوری که طول دوره گلدهی کمتر منجر به افت کیفیت میوه و طول دوره گلدهی بیشتر منجر به افزایش صفات رنگ، بافت، بو و طعم ژنوتیپ‌های شلیل گردید. به نظر می‌رسد، طول دوره گلدهی از اهمیت فراوانی در شکل‌گیری پارامترهای کیفی میوه دارد.

جدول ۶- میانگین دوساله نتایج تست پانل ارقام و ژنوتیپ‌های مورد مطالعه شلیل در شرایط اقلیمی خراسان رضوی (۱۳۹۸-۱۳۹۷)

Table 6- Two-years average of the panel tests of nectarine cultivars and genotypes studied under Khorasan Razavi climate conditions (2018-2019)

ژنوتیپ‌ها و ارقام Genotypes and cultivars	زمان برداشت Harvest time	رنگ Color	بافت Texture	بو Smell	طعم Taste	پذیرش کلی General acceptance
'فلامینو' 'Flamino'	05/13	4.85	4.9	4.9	4.75	4.85
'نکتارد' 'Nectared'	05/06	4.7	4.35	4.4	4.75	4.55
'هنری' 'Henri'	06/09	4.85	4.9	5.0	4.95	4.92
'شانیاریا' 'Shaniaria'	05/19	5.0	4.9	4.75	4.85	4.87
'رویزیانا' 'Royziana'	05/28	3.65	3.25	3.0	3.35	3.31
'تاج شماره ۱' 'Taj-1'	05/11	3.8	4.65	5.0	4.85	4.57
'تاج شماره ۲' 'Taj-2'	05/16	3.06	3.65	4.1	4.16	3.75
'شلیل ۱' 'Shalil-1'	05/19	4.55	4.9	4.35	4.3	4.52
'آندروس' 'Andrros'	05/20	4.8	4.8	4.8	4.75	4.78
'سان‌گلد' 'Sungold'	05/05	4.9	4.9	4.9	4.55	4.81

پذیرش کلی: ۱: بسیار بد، ۲: نسبتاً بد، ۳: متوسط، ۴:نسبتاً خوب، ۵: بسیار خوب

General acceptance: 1: very bad, 2: relatively bad, 3: moderate, 4: relatively good, 5: very good

همبستگی ساده (پیرسون) بین صفات و تجزیه رگرسیون

براساس نتایج همبستگی ساده (جدول ۷)، عملکرد درخت با صفات ارتفاع درخت و سفتی بافت میوه همبستگی مثبت و معنی‌دار و با صفات طول میوه، عرض میوه و طول هسته همبستگی منفی و معنی‌دار داشت. از طرف دیگر، اسیدیته قابل تیتراسیون با صفات ارتفاع درخت، قطر تنه، حجم تاج درخت و شاخص طعم میوه همبستگی منفی و معنی‌دار و با صفات عرض میوه و سفتی بافت همبستگی مثبت و معنی‌دار نشان داد. براساس نتایج مطالعات پیشین، علاوه بر خصوصیات ژنتیکی رقم، بین میزان رشد سطح مقطع عرضی تنه، اندازه و ابعاد تاج، ارتفاع درخت و تعداد شاخه‌های بارده در درختان میوه از جمله شلیل رابطه مستقیم وجود دارد به‌طوری که با افزایش میزان رشد صفات رویشی میزان تولید محصول در درختان افزایش می‌یابد (Fathi *et al.*, 2012). در پژوهش حاضر رابطه منفی مابین اسیدیته قابل تیتراسیون با مواد جامد محلول وجود داشت. فلاتی و همکاران (Falati *et al.*, 2019) بیان داشتند که محتوی مواد جامد محلول با بافت و ترکیبات موجود در میوه همبستگی دارد. در همین راستا، مولایی و همکاران (Molaie *et al.*, 2017) گزارش کردند که در حین رسیدن میزان اسیدیته قابل تیتراسیون کاهش یافته و میزان مواد جامد محلول افزایش می‌یابد، بنابراین با افزایش مقدار مواد جامد محلول به‌عنوان یکی از اجزای غیرساختاری ماده خشک میوه، وزن خشک میوه نیز افزایش می‌یابد.

تجزیه رگرسیونی گام به گام به منظور حذف صفات کم اثر یا غیرمؤثر در مدل رگرسیونی بر عملکرد میوه شلیل، به روش Stepwise به‌صورتی که در آن عملکرد به‌عنوان متغیر وابسته و باقی صفات مورفولوژیک، پومولوژیک و فیزیولوژیک به‌عنوان صفات مستقل در نظر گرفته شد، انجام شد. براساس نتایج به‌دست آمده به‌ترتیب صفات ارتفاع درخت، حجم تاج درخت، عرض میوه، وزن هسته و وزن میوه وارد مدل شدند که در نهایت صفات وارد شده به مدل، ۵۵/۹۱ درصد از تغییرات عملکرد را توجیه نمودند (جدول ۸). مدل نهایی رگرسیونی عبارت است از (رابطه ۱):

$$Y= 17.23+ 0.1371 (X1) - 0.0759 (X2) - 0.844 (X3) + 1.814 (X4) + 12.56 (X5)$$ رابطه ۱:

که در آن X1= ارتفاع درخت، X2 = حجم تاج درخت، X3= عرض میوه، X4= وزن هسته و X5= وزن میوه بودند.

جدول ۷- همبستگی ساده بین صفات پومولوژیک، مورفولوژیک و فیزیولوژیک ۱۰ رقم و ژنوتیپ شلیل در شرایط اقلیمی خراسان رضوی (۱۳۹۸-۱۳۹۷)

Table 7- Simple correlation between pomological, morphological, and physiological characteristics of 10 nectarine genotypes and cultivars under Khorasan Razavi climatic conditions (2018-2019)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
2	0.77														
3	0.80	0.91													
4	-	-	-												
5	0.33	-	-	-											
6	-	-	-	-	-0.36										
7	-	-	-	-	-0.44	0.85									
8	0.48	0.59	0.66	-	-	0.45	0.37								
9	-	-	-	-0.35	-0.32	0.58	0.50	-							
10	-	-0.32	-	-0.31	--	0.36	0.40	-	0.72						
11	0.30	0.33	0.49	-	-	0.62	0.39	0.63	0.30	-					
12	-	-	-	-	-	-	-	-0.33	-	-	-				
13	-0.41	-0.45	-0.36	-	-	-	0.31	-	-	-	-	-			
14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.40	-		
15	-	-	-	-	0.46	-	-	-	-	-	0.32	-	0.36	-	
16	0.49	0.52	0.39	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-0.85	0.46	-

-1	-0.9	-0.8	-0.7	-0.6	-0.5	-0.4	-0.3	-0.2	-0.1	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1

Negative correlation — non-correlation — positive correlation

۱: ارتفاع درخت، ۲: قطر تنه، ۳: حجم تاج درخت، ۴: سبزینگی برگ، ۵: عملکرد، ۶: طول میوه، ۷: عرض میوه، ۸: وزن میوه، ۹: طول هسته، ۱۰: عرض هسته، ۱۱: وزن هسته، ۱۲: اسیدیته، ۱۳: اسیدیته قابل تیتراسیون، ۱۴: مواد جامد محلول، ۱۵: سفتی بافت، ۱۶: شاخص طعم میوه

1: Plant height; 2: Trunk diameter; 3: Crown of the tree; 4: Chlorophyll index; 5: Yield; 6: Fruit length; 7: Fruit width; 8: Fruit weight; 9: Stone length; 10: Stone width; 11: Stone weight; 12: pH; 13: Titratable acidity; 14: Soluble solids; 15: Fruit tissue firmness; 16: Flavor index

جدول ۸- تجزیه رگرسیونی گام به گام که عملکرد به‌عنوان متغیر وابسته و سایر صفات به‌عنوان متغیر مستقل

Table 8- Stepwise regression for yield as dependent variable and other traits as independent variable

Term	Coef	SE Coef	T-Value	P-Value
عدد ثابت	17.23	7.03	2.45	0.018
ارتفاع درخت (X1)	0.1371	0.0299	4.58	0.000
حجم تاج درخت (X2)	-0.0759	0.0269	-2.82	0.007
عرض میوه (X3)	-0.844	0.118	-7.14	0.000
وزن هسته (X4)	1.814	0.593	3.06	0.003
وزن تک میوه (X5)	12.56	2.45	5.13	0.000
R-Sq(adj)= 55.91%				
Y= 17.23+ 0.1371 (X1) – 0.0759 (X2) - 0.844 (X3) + 1.814 (X4) + 12.56 (X5)				

نتیجه‌گیری

هدف از پژوهش حاضر مطالعه پاسخ‌های مورفولوژیک، پومولوژیک و بیوشیمیایی ارقام و ژنوتیپ‌های مختلف شلیل در شرایط اقلیمی خراسان رضوی بود. نتایج بررسی دوساله نشان از تنوع بالا و تفاوت معنی‌دار مابین ارقام و ژنوتیپ‌های مورد بررسی از نظر صفات رویشی، مورفولوژی، عملکردی و بیوشیمیایی بود. 'فلامینو'، 'نکتارد' و 'آندروس' از زودگل‌ترین ارقام در شرایط اقلیمی بودند در حالی که 'هنری' دیرگل‌ترین شلیل در منطقه بود. تفاوت معنی‌داری در اکثر صفات بررسی شده در سال‌های متفاوت اجرا آزمایش مشاهده شد و در اکثر صفات (به غیر از شاخص طعم، اسیدیته قابل تیتراسیون و عرض و طول هسته) سال دوم از برتری معنی‌دار آماری در مقایسه با سال اول برخوردار بود. از نظر صفات عرض تنه، سبزینگی برگ، طول و عرض میوه، وزن تک میوه و وزن هسته، 'فلامینو' دارای بیشترین میانگین این صفات بود. از نظر عملکرد میوه، 'هنری' بیشترین عملکرد را در مقایسه با سایر ارقام و ژنوتیپ‌ها به خود اختصاص داد. 'رویزیانا' از نظر صفات اسیدیته، مواد جامد محلول و همچنین شاخص طعم برتری معنی‌داری در مقایسه با سایر ارقام داشت. نتایج تجزیه همبستگی ساده و رگرسیون گام به گام نشان داد که وزن میوه و صفات رویشی از جمله ارتفاع درخت از صفات بسیار مؤثر در عملکرد نهایی محسوب می‌گردد. در مجموع 'فلامینو'، 'نکتارد' و 'هنری' به دلیل داشتن صفات پومولوژیک فنولوژیک با میانگین بالا به‌عنوان ارقام برتر شلیل برای کشت در شرایط اقلیمی استان خراسان رضوی قابل توصیه می‌باشد.

منابع

1. Abdollahi R., Hajilou J., Zainalabedini M., Mahna N., and Ghaffari M. 2019. Evaluation of qualitative traits of peel and flesh of some peach cultivars and genotypes. Iranian Journal of Horticultural Science 50: 151-162. (In Persian with English abstract)
2. Abedi B., Parvaneh T., and Ardakani,E. 2020. Investigation of correlation of enzymatic browning fruit tissue and amount of phenolic compounds, flavonoid, and anthocyanin red-flash and some Iranian spring apple cultivars. Journal of Horticultural Science 33: 609-622. (In Persian with English abstract)
3. Arzani K., Khoshghal, H., Malakouti M.J., and Barzegar M. 2008. Postharvest fruit physicochemical changes and properties of Asian (*Pyrus serotina* Rehd.) and European (*Pyrus communis* L.) pear cultivars. Horticulture Environment and Biotechnology 49: 244-252.
4. ASIA I. 2013. Food and agriculture organization of the United Nations. Rome.
5. Byrne D. 2003. Breeding peaches and nectarines for mild-winter climate areas: state of the art and future directions. In: Proceedings of the First Mediterranean Peach Symposium Agrigento, Italy, p: 102-109.
6. Cantín Mardones C.M., Gogorcena Aoiz Y., and Moreno Sánchez M.Á. 2010. Phenotypic diversity and relationships of fruit quality traits in peach and nectarine [*Prunus persica* (L.) Batsch] breeding progenies. Euphytica 171(2): 211-226. https://doi.org/10.1007/s10681-009-0023-4.
7. Ceccarelli D., Talento C., Sartori A., Terlizzi M., Caboni E., and Carbone K. 2016. Comparative characterization of fruit quality, phenols and antioxidant activity of de-pigmented "Ghiaccio" and white flesh peaches. Advances in Horticultural Science 30: 175-182. https://doi.org/10.13128/ahs-20280.
8. Dabbou S., Lussiana C., Maatallah S., Gasco L., Hajlaoui H., and Flamini G. 2016. Changes in biochemical

compounds in flesh and peel from *Prunus persica* fruits grown in Tunisia during two maturation stages. Plant Physiology and Biochemistry 100: 1-11. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2015.12.015

9. Dirlewanger E., Cosson P., Boudehri K., Renaud C., Capdeville G., Tauzin Y., Laigret F., and Moing A. 2006. Development of a second-generation genetic linkage map for peach (*Prunus persica* (L.) Batsch] and characterization of morphological traits affecting flower and fruit. Tree Genetics and Genomes 3: 1-13. https://doi.org/10.1007/s11295-006-0053-1.
10. Falati Z., Fattahi Moghaddam M.R., and Ebadi A. 2019. Evaluation of phonological characteristics, fruit setting and fruit quality properties of some plum cultivars under Karaj environmental conditions. Seed and Plant Improvment Journal 35: 189-210. (In Persian with English abstract)
11. Farhadi A., Jalali S., and Ne'amat-o-lahi M.R. 2009. Evaluation of qualitative and quantitative characteristics of cantaloupe (*Cucumis melo* var reticulatus) cultivated under different polyethylene mulches. Iranian Journal of Horticultural Science 40:1-10. (In Persian with English abstract)
12. Fathi H., Karbalaei Khiavi H., Jahani U., and Bouzari N. 2013. Evaluation of compatibility and comparison of qualitative and quantitative characteristics of some nectarine cultivars in Meshkinshahr condition. Journal of Horticultural Science 27: 44-51. (In Persian with English abstract)
13. Ganji Moghadam E. 2020. Comparison of phonological, morphological and pomological characteristics of 7 apricot promising genotypes in Khorasan Razavi Province. Journal of Horticultural Science 34: 1-9. (In Persian with English abstract)
14. Ghasemi A. 2001. Study of quantitative and qualitative chlttacters of nectarine cultivars under climatic conditions of Isfahan. Seed and Plant Production Journal 17: 315-328. (In Persian with English abstract)
15. Hilaire C. 2003. The peach industry in France: state of art, research and development. In: First Mediterranean peach symposium, Agrigento, Italy, p: 27-34.
16. Forcada C.F., Gradziel T.M., Gogorcena Y., and Moreno M.Á. 2014. Phenotypic diversity among local Spanish and foreign peach and nectarine (*Prunus persica* (L.) Batsch] accessions. Euphytica 197: 261-277.
17. Jung K.M., Ki, S.Y., Lee G.W., Kim I.D., Park Y.S., Dhungana S.K., Kim J.H., and Shin D.H. 2020. Quality characteristics and antioxidant activity of unripe peach (*Prunus persica* L. Batsch) extracts with distilled water coupled with ultrasonication and prethanol-a. International Journal of Fruit Science 20: 1-12 https://doi.org/10.1080/15538362.2019.1709111.
18. Karami F., and Nejad A. 2013. Effects of late spring frost on fruit yield and some physiological traits of apricot in Kurdistan Province in Iran. Seed and Plant Production Journal 29: 1-15. (In Persian with English abstract)
19. Layne R. 1997. Peach and nectarine breeding in Canada: 1911 to 1995. Fruit Varieties Journal (USA).
20. Mohammadzadeh S., Bouzari N., Abdossi V., and Kavand A. 2013. Morphological and pomological characteristics of some native apricot cultivars and genotypes of Iran. Seed and Plant Improvement Journal 29: 1-8. (In Persian with English abstract)
21. Molaie S., Soleimani A., and Zeinolabedini M. 2017. Evaluation of quantitative and qualitative traits of some apricot cultivars grown in Zanjan region. Journal of Horticultural Science 30: 35-48. (In Persian with English abstract)
22. Najafzadeh R., and Arzani K. 2016. Assessment of morphological, physiological and pomological variations in some of European pear (*Pyrus communis* L.) genotypes. Journal of Crop Production and Processing 6: 151-164. (In Persian with English abstract)
23. Rahimkhani R., Varasteh F., and Seyfi E. 2016. Evaluation of genetic diversity in some loquat genotypes based on pomological characteristics in Golestan province. Journal of Plant Production Research 23: 157-177.
24. Rahmati M., Davarinezhad G., Ghani A., Attar S., Mirabi E., and Razeghiyadak L. 2014. Investigating physico-chemical characteristics and antioxidant activity of some commercial peach cultivars fruit. Journal of Plant Productions (Agronomy, Breeding and Horticulture) 36: 81-93. (In Persian with English abstract)
25. Rahovic D. 1996. Studies on the important cultivars of nectarine in the Belgrade region conditions [Yugoslavia]. Poljoprivredne.
26. Reig G., Alegre S., Gatius F., and Iglesias I. 2015. Adaptability of peach cultivars (*Prunus persica* (L.) Batsch] to the climatic conditions of the Ebro Valley, with special focus on fruit quality. Scientia Horticulturae 190: 149-160. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.04.019.
27. Rezaee R., Hasani G., and Salehi S.E. 2016. Growth, flowering time and quality of twelve apple varieties under Urmia climate. Journal of Horticultural Science 30: 681-693. (In Persian with English abstract)

28. Scorza R., Bassi D., and Liverani A. 2002. Genetic interactions of pillar (columnar), compact, and dwarf peach tree genotypes. Journal of the American Society for Horticultural Science 127: 254-261. https://doi.org/10.21273/JASHS.127.2.254.
29. Sherman W., and Lyrene P. 2002. Sunbest'nectarine. Journal of the American Pomological Society 56: 206.
30. Tahmasebi M., Golmohammadi A., Nematollahzadeh A., Davari M., and Chamani E. 2019. Control of nectarine fruits postharvest fungal rots caused by Botrytis Cinerea and Rhizopus Stolonifer via some essential oils. Journal of Food Science and Technology 12: 1-9. https://doi.org/10.1007/s13197-019-04197-4.

Journal of Horticultural Science
https:// jhs.um.ac.ir

Research Article
Vol. 36, No. 1, Spring 2022, p. 103-115

Effect of Water Stress on some Morphological and Physiological Characteristics of *Citrus* Natural Genotypes Seedling

R. Fifaei[1]*, H. Taheri[2], Y. Tajvar[3], E. Gholamian[4]

Received: 17-03-2021
Revised: 24-04-2021
Accepted: 08-06-2021
Available Online: 20-06-2022

How to cite this article:
Fifaei R., Taheri H.,Tajvar Y., and Gholamian E. 2022. Effect of Water Stress on some Morphological and Physiological Characteristics of Citrus Natural Genotypes Seedling. Journal of Horticultural Science 36(1): 103-115. (In Persian with English abstract).
DOI: 10.22067/JHS.2021.69052.1027

Background and Objectives

Water is a main factor in agriculture activities and almost 70 percent of world water resources are consumed in agriculture. Drought consist the most important environmental restriction to plant growth and production. Drought stress is known to change a range of physiological processes such as photosynthesis, stomatal conductance and transpiration rate. *Citrus* are one of sub-tropical and tropical fruits and the most important horticultural products in the world that tolerate low temperature and weak drainage but as regards *Citrus* growing in sub-tropical and tropical regions that often expose drought. Drought is one the environment stress factors that is caused changes in plants morphological and physiological characteristics. Study of survival time in the three citrus rootstocks in sever stress circumstances showed that this time in rootstocks poncirus, cleopatra mandarine and former-alkaeid 5 were 11, 13 , 20 days, respectively while survival time in valencia on the rootstocks was 21, 26 and 29 days, respectively. This study was performed in order to study drought tolerant in natural genotypes with the poncirus and rough lemon. And so, morphological and physiological characteristics were investigated in this genotypes.

Materials and Methods

This research was performed in separately two tests in Citrus and subtropical fruits research center on 2016. In the first test, survival time and total transpiration and in the second test, organs fresh and dry weight, ion leackage and leaf relative water content were assessed in factorial experiment based on randomized completely design in nucellar seedlings of 8 *Citrus* natural genotypes (G10, G11, G12, G16, G18, G22, G23, G25) poncirus and rough lemon under glasshouse conditions (with temperature 26-28 degree centigrade in day and 20-22 degree centigrade in night and 80-85 percent relative humidity). Factors were 10 *Citrus* genotypes and two treatment of irrigation (optimum irrigation and withholding irrigation for six weeks) in the second test and 10 *Citrus* genotypes in the first test. In this study, medium weight moisture is calculated and due to the soil moisture characteristics curve was obtained medium matric potential. The matric potential rate was in control -0.03 megapascal and in sever stresss -1.5 megapascal. Organs fresh and dry weight were measured on digital balance with accuracy 0.01 gr. (model GM 6101, Germany). S amples were dried in oven (70 degree centigrade and for 48 hours). RWC is measured by using of fresh weight, dry weight and turgid weight in this formula: RWC= [(FW-DW) / (TW-DW)] × 100. Ion leackage was determined by use of 4 equal leaf segments and measuring of primary and secondary ion leackage in this fomula: EL (%) = (EL1/EL2) × 100. The first research was included of 10 treatment, six replication and one seedling in every plot and the second research was included of 20 treatment, three replication and two seedlings in every plot. SAS software (ver. 9.1) and Duncan test were used to variance analysis and mean comparison. Excel software was used to graphs drawing.

Results

1, 2, 3 and 4- Assistant Professors of Citrus and Subtropical Fruits Research Center, Horticultural Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Ramsar, Iran
(*- Corresponding Author Email: rezafifaei@yahoo.com)

The results showed that in first test, poncirus (with 125 days) and G11 (with 78 days) have longer survival time and are more tolerant and so rough lemon (with 38 days) and G12 (with 44 days) were more susceptible. Others were intermediate. Slowest of water consumption time in poncirus and the most quick in rough lemon, and so maximum of total transpiration in G25 and minimum in poncirus was observed. In second test, decrease maximum of leaf, shoot and total fresh weight in G22 (arranged by 0.37, 0.47 and 0.42) and decrease minimum in G11 (arranged by 0.48, 0.54 and 0.52), decrease maximum of root fresh weight in G22 (with 0.35 fold) and decrease minimum in G18 (with 0.52 fold), decrease maximum of root/shoot fresh weight in G18 (with 0.61 fold) and decrease minimum in G23 (with 0.65 fold) and increase maximum of root/shoot dry weight in G16 (with 1.56 fold) and increase minimum in poncirus (with 1.3 fold) was observed in compared with control. In stress, G18 (with 32.32 percent) and G12 (with 34.37 percent) had leaf relative water content minimum in compared with control. G12 (with 78.59 percent) and G18 (with 73.16 percent) had maximum and poncirus (with 31.85 percent) minimum ion leackage percent in compared with control. Therefore, rough lemon, G12 and G18 as susceptible and poncirus and G11 as tolerant to drought were introduced.

Discussion

In stress conditions, poncirus has longer survival time, slower water consumption time, minimum total transpiration and minimum ion leackage percent and is most tolerant. Rough lemon has shower survival time, more rapid water consumption time and is most susceptible. Other genotypes locate in after grades. Therefore poncirus and rough lemon can be used as rulers in tests of drought study.

Keywords: *Citrus* natural genotypes, Drought tolerant, Ion leackage, Water stress

نشریه علوم باغبانی
https:// jhs.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۶، شماره ۱، بهار ۱۴۰۱، ص ۱۱۵-۱۰۳

تاثیر تنش آبی بر برخی صفات مورفولوژی و فیزیولوژی دانهال ژنوتیپ‌های طبیعی مرکبات

رضا فیفائی[1*]- حسین طاهری[2]- یحیی تاجور[3]- اسماعیل غلامیان[4]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۲/۲۷
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۳/۱۸

چکیده

مرکبات جزو میوه‌های نیمه‌گرمسیری و گرمسیری و از مهم‌ترین محصولات باغبانی هستند. خشکی از مهم‌ترین تنش‌های زیستی در مرکبات است. این پژوهش به منظور بررسی اثر خشکی بر دوره بقاء، تعرق کل و برخی صفات در دانهال‌های نوسلار ۱۰ ژنوتیپ طی دو آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در شرایط گلخانه‌ای انجام شد. در آزمایش اول ۱۰ ژنوتیپ، تحت تنش شدید قرار گرفته تا دوره بقاء تعیین شود، سپس در آزمایش دوم این ۱۰ ژنوتیپ تحت تأثیر دو تیمار آبیاری (شاهد و قطع آبیاری) واقع شده و برخی صفات اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد در آزمایش اول پونسیروس و G11 دوره بقاء طولانی‌تری (۱۲۵ روز) داشته و متحمل‌تر و رافلمون (با ۳۸ روز) و G12 (با ۴۴ روز) نیز حساس‌تر بودند. کندترین زمان مصرف آب در پونسیروس و سریع‌ترین آن در رافلمون، همچنین بیش‌ترین میزان تعرق تجمعی در G25 و کم‌ترین آن در پونسیروس دیده شد. در آزمایش دوم بیش‌ترین کاهش وزن تر برگ (۰/۳۷ برابر)، شاخه (۰/۴۷ برابر) و کل (۰/۴۲ برابر) ناشی از خشکی در G22 و کم‌ترین کاهش در G11 بترتیب با ۰/۴۸، ۰/۵۴ و ۰/۵۲ برابر در مقایسه با شاهد، بیش‌ترین کاهش وزن تر ریشه ناشی از خشکی در G22 با ۰/۳۵ برابر و کم‌ترین کاهش در G18 با ۰/۵۲ برابر، بیش‌ترین کاهش وزن تر ریشه به شاخه ناشی از خشکی در G18 با ۰/۶۱ برابر و کم‌ترین کاهش در G23 با ۰/۶۵ برابر و بیش‌ترین افزایش وزن خشک ریشه به شاخه ناشی از خشکی در G16 با ۱/۵۶ برابر و کم‌ترین افزایش در پونسیروس با ۱/۳ برابر نسبت به شاهد دیده شد. در شرایط تنش G18 و G12 بترتیب با ۳۲/۳۲ و ۳۴/۳۷ درصد کم‌ترین محتوای نسبی آب برگ را داشتند. همچنین G23، G22، G25، G12 و G18 از بیش‌ترین و پونسیروس از کم‌ترین درصد نشت یونی (۳۱/۸۵ درصد) برخوردار بودند. بنابراین پس از بررسی شاخص‌های فوق‌الذکر، می‌توان رافلمون و G12 و G18 را بعنوان حساس در برابر خشکی و پونسیروس و G11 را نیز بعنوان متحمل به خشکی معرفی نمود.

واژه‌های کلیدی: تحمل به خشکی، تنش کم‌آبی، نشت یونی، نژادگان طبیعی مرکبات

مقدمه

مرکبات از خانواده روتاسه[5] و زیرخانواده اورانتیوئیده[6] بوده که شامل پرتقال، نارنگی، پوملو، بالنگ، گریپ‌فروت، لایم و لمون است. سازگاری آمیزشی بین جنس مرکبات و جنس‌های مرتبط با آن و همچنین سازگاری بین گونه‌ها، فراوانی جهش جوانه و بروز پدیده آپومیکسی در برخی گونه‌ها، دورگه‌های طبیعی و مصنوعی زیادی در این گیاه ایجاد نموده است. بررسی این دورگه‌ها در برابر تنشهای زنده و غیرزنده می‌تواند راهکار خوبی در دستیابی به منابع ژنتیکی متحمل باشد (Nicolosi, 2007). ژنوتیپ‌های طبیعی مرکبات، ژنوتیپ‌هایی هستند که در اثر گرده افشانی طبیعی بین ارقام و گونه‌های مختلف جنس سیتروس، پونسیروس و ... حاصل شده و والدین نامشخص دارند. این ژنوتیپ‌ها از باغات مناطق شمالی و جنوبی کشور جمع آوری، تکثیر و در کلکسیون منابع ژنتیکی ایستگاه کترا کشت شده و بمنظور اهداف مختلف در پروژه‌های تحقیقاتی استفاده می‌شوند. این‌ها حاصل تلاقی و یا دورگ‌گیری توسط انسان نیستند.

خشکی یکی از عوامل تنش‌زای محیطی است که باعث ایجاد تغییرات بسیاری در خصوصیات مورفولوژی و فیزیولوژی گیاهان می‌شود (Fotouhi Ghazvini *et al.*, 2011). درختان مرکبات دماهای پایین و زهکشی ضعیف خاک را بخوبی تحمل نکرده و در

۱، ۲، ۳ و ۴ - استادیار پژوهشکده مرکبات و میوه‌های نیمه‌گرمسیری، موسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رامسر، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: rezafifaei@yahoo.com)
DOI: 10.22067/JHS.2021.69052.1027

5- Rutaceae
6- Aurantioideae

مناطق گرم با خاک‌های دارای ظرفیت نگهداری آب پایین پرورش داده می‌شوند و در نتیجه خشکی‌های دوره‌ای را تجربه می‌کنند (Fereres and Soriano, 2007).

بررسی دوره بقاء سه پایه مرکبات شامل پونسیروس، کلئوپاتراماندارین و فورنرآلکاییـد ۵[1] در شرایط تنش شدید خشکی (قطع آبیاری) نشان داد میانگین این زمان برای پایه‌های مزبور به ترتیب ۱۱، ۱۳ و ۲۰ روز است در حالی که در نهال‌های والنسیا پیوندی روی این پایه‌ها به ترتیب ۲۱، ۲۶ و ۲۹ روز می‌باشد (Rodríguez-Gamir *et al*., 2010).

بررسی دو پایه کاریزوسیترنج و کلئوپاتراماندارین تحت تنش خشکی (قطع آبیاری به مدت نه روز) نشان داد در تیمار شاهد میزان تعرق در برگ‌های کاریزوسیترنج بیش‌تر از کلئوپاتراماندارین بود و خشکی باعث کاهش تعرق در هر دو پایه بخصوص کلئوپاتراماندارین شد (Garcıa-Sancheza *et al*., 2007). همچنین زمانی که سه رقم پرتقال واشنگتن‌ناول، خونی و شاموتی روی پایه نارنج تحت تیمارهای مختلف آبیاری (۰، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد آب قابل دسترس) قرار گرفتند نتایج نشان داد تفاوت قابل ملاحظه‌ای در میزان تعرق ارقام در پاسخ به خشکی پیش‌رونده با زمان وجود دارد و رقم پرتقال شاموتی در مقایسه با سایر ارقام، متحمل‌تر به خشکی است و کاهش کمتری در میزان تعرق در طول دوره نشان داد در حالی که واشنگتن‌ناول حساسیت بیشتری داشت (Al-Absi, 2009). بررسی اثر تنش آبی (شاهد با سه بار و تنش با یک بار آبیاری در هفته) روی دانهال‌های سوئینگل سیترومِلو و کلئوپاتراماندارین در شرایط گلخانه‌ای مشخص کرد میزان تعرق در شرایط طبیعی در سیترومِلو بیش‌تر از کلئوپاترا بود (Cimo *et al*., 2013). میزان تعرق در همه حالات در دوره تنش کاهش یافت. مطالعه یک سیکل خشکی (۲۱ روز قطع آبیاری و سپس دو روز آبیاری مجدد) در نهال‌های پرتقال نیوهال[2] و تانگور الندیل[3] در شرایط گلخانه‌ای کنترل شده نیز نشان داد در تیمار شاهد میزان تعرق کوتیکولی[4] در پرتقال ۶۲ درصد بالاتر از تانگور بود ولی تحت شرایط خشکی این میزان در پرتقال ثابت و در تانگور کاهش داشت به طوری که در پایان آزمایش، کاهش ۴۵ درصدی در تعرق دیده شد (Alizadeh *et al*., 2011).

در بررسی تاثیر کم‌آبی و میکوریزا در دانهال‌های رافلمون گلدانی مشاهده شد در شرایط تنش، نسبت وزن خشک شاخه به ریشه کاهش معنی‌داری در مقایسه با شاهد داشت (Levyt and Syvertsen, 1983). تاثیر دو گونه قارچ میکوریزا بر برخی خصوصیات دانهال‌های گلدانی ولکامریانا تحت تیمارهای تنش خشکی نشان داد وزن خشک برگ، شاخه و ریشه در شرایط تنش، کاهش معنی‌داری در مقایسه با شاهد داشت (Haghighatnia *et al*., 2011). در بررسی دیگری وزن خشک شاخه و نسبت وزن خشک ریشه به شاخه در هلوی کاترینا روی چهار پایه با قطع آبیاری تا ۲۶ روز معنی‌دار نبود هرچند مقدار آن‌ها نسبت به شاهد کاهش داشت (Jimenez *et al*., 2013). در تحقیق دیگری کاهش وزن تر و خشک کل گیاه در رقم سیب ویستا بلا روی هر دو پایه مورد استفاده در اثر خشکی گزارش شد (Bolat *et al*., 2014). در ارقام انگور، زیتون و سیب کاهش وزن تر و خشک شاخه، برگ و ریشه در اثر خشکی گزارش شده است (Arji *et al*., 2003 ;Rabiei, 2004).

در بررسی تنش شدید خشکی روی پایه فورنر آلکائید ۵ در مقایسه با والدینش یعنی کلئوپاتراماندارین و پونسیروس تریفولیاتا مشاهده نمودند در هر سه پایه محتوای نسبی آب برگ کاهش یافت (Rodríguez-Gamir *et al*., 2010). مطالعه دو پایه کاریزوسیترنج و کلئوپاتراماندارین نشان داد محتوای نسبی آب برگ در دانهال‌های تحت خشکی پایین‌تر از شاهد بود و این کاهش در کاریزوسیترنج بیش‌تر از کلئوپاتراماندارین دیده شد (Fotouhi Ghazvini *et al*., 2011). بررسی دانهال‌های سه ماهه ۱۰ پایه مختلف مرکبات تحت رژیم‌های متفاوت آبیاری در گلخانه نشان داد با افزایش تنش خشکی کاهش معنی‌داری در محتوای نسبی آب برگ همه پایه‌ها مشاهده شد (Beniken *et al*., 2013). مطالعه یک سیکل خشکی در نهال‌های شش ماهه پرتقال نیوهال و تانگور الندیل در شرایط گلخانه‌ای کنترل شده نشان داد در پایان دوره تنش، کاهش قابل ملاحظه‌ای در محتوای نسبی آب برگ در نهال‌های تانگور مشاهده شد (Save *et al*., 1995). اثر تنش خشکی بر نهال‌های گلدانی پرتقال والنسیا روی پایه‌های رانگ‌پورلایم دیپلوییدی و تتراپلوییدی در شرایط گلخانه‌ای نشان داد سطوح پلوییدی پایه‌ها، تاثیری بر محتوای نسبی آب برگ نداشت و تفاوتی بین والنسیا پیوندی روی رانگ‌پورلایم دیپلوییـد و تتراپلویید دیده نشد (Allario *et al*., 2012). بررسی تنش خشکی در شش رقم انجیر نشان داد خشکی سبب کاهش محتوای نسبی آب برگ و نشت یونی شد که بیش‌ترین آن مربوط به رقم سیاه درشت بود (Sajedi *et al*., 2017). بررسی واکنش پنج رقم انگور در چهار سطح پتانسیل آب خاک نشان داد پایداری نسبی غشاء سلولی، با افزایش شدت تنش خشکی کاهش و در نتیجه نشت یونی افزایش یافت. درصد پایداری نسبی غشاء سلولی در ۱/۵- مگاپاسکال در ارقام خوشناو، ساهانی و بیدانه سفید نسبت به بقیه به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (Ghaderi *et al*., 2010). مطالعه تنش خشکی در ارقام سیب ویستا بلا و گلابی سانتاماریا نشان داد با افزایش سطوح تنش آبی، درصد نشت یونی در هر دو رقم روی پایه‌های مورد مطالعه افزایش داشت. میزان این افزایش در گلابی رقم سانتاماریا کم‌تر بود (Bolat

1- Forner- Alcaide no.5
2- Newhall orange (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck)
3- Ellendale tangor (orange x mandarin hybrid) (*Citrus sinensis* (L) Osbeck *x Citrus reticuluta* Blanco)
4- Cuticular transpiration rate (TRc)

et al., 2014). مطالعه دیگری نشان داد شاخص پایداری غشاء سلولی در دو رقم توت فرنگی پاروس و کوئین الیزا در اثر تنش خشکی ۱٫۲- مگاپاسکال کاهش یافت (Marivani *et al.*, 2019).

هدف از انجام این پژوهش، بررسی برخی از ژنوتیپ‌های طبیعی از نظر تحمل به خشکی و مقایسه آن‌ها با رافلمون و پونسیروس از نظر برخی شاخص‌های مرفولوژی و فیزیولوژی است.

مواد و روش‌ها

بذور هشت ژنوتیپ طبیعی (که با کدهای عددی بصورت Gn نمایش داده شدند) و دو پایه متحمل پونسیروس[1] و حساس رافلمون[2] جمع‌آوری و پس از آماده‌سازی و ضدعفونی با قارچ کش کاپتان (به غلظت دو در هزار) در ترکیب استریل متشکل از پرلیت و ماسه اتوکلاو شده (به نسبت مساوی) در سال ۱۳۹۵ کشت شدند. بعد از سبز شدن بذور، دانهال‌های نوسلار تولیدی در مرحله دو تا سه برگی به گلدان‌های پلاستیکی دو و نیم لیتری محتوی ترکیب استریل کوکوپیت و ماسه به نسبت مساوی (اتوکلاو شده) منتقل و در گلخانه کنترل شده پژوهشکده مرکبات و میوه‌های نیمه‌گرمسیری در رامسر (با دمای ۲۶- ۲۸ درجه سانتی‌گراد در روز و ۲۰ -۲۲ درجه در شب با رطوبت نسبی ۸۰- ۸۵ درصد) قرار گرفتند. آبیاری در حد حفظ ظرفیت گلدانی و تغذیه با محلول هوگلند (هر هفت روز یکبار) انجام شد.

در آزمایش اول، دوره بقاء ژنوتیپ‌ها و تعرق کل تعیین شد. دانهال‌های یکساله یکنواخت که در شروع آزمایش انتخاب شدند تحت تنش شدید خشکی قرار گرفتند بدین ترتیب که آبیاری شش دانهال از هر ژنوتیپ قطع، تا دوره بقاء آن‌ها (یعنی مدت زمانی که طول می کشد تا کل برگ‌های ۵۰ درصد گیاهان تحت تنش بگونه‌ای پژمرده شوند که با آبیاری مجدد دیگر به حالت اولیه برنگردند) مشخص شود. گلدان‌ها حداقل دو بار در هفته در طول دوره تنش خشکی وزن شدند و در نهایت میزان تعرق کل محاسبه شد. در شروع آزمایش گلدان‌ها بطور کامل آبیاری شدند و بعد از زهکشی کامل و خروج آب اضافی با کیسه پلاستیکی سیاه پوشیده و قسمت پایین ساقه جهت ممانعت از تبخیر و از دست‌دهی آب، کاملاً بسته شد. در این تحقیق از طرح کاملاً تصادفی با شش تکرار و یک دانهال در هر واحد آزمایشی استفاده شد (Rodríguez-Gamir *et al.*, 2010).

در آزمایش دوم، چند روز قبل از زمان بقاء که در آزمایش اول تعیین شد، نمونه‌برداری از برگ‌های میانی شاخه دانهال‌های یک‌ساله انجام و شاخص‌های مورد نظر اندازه‌گیری شد. در این آزمایش که به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و دو دانهال در هر واحد آزمایشی انجام شد فاکتورها شامل ژنوتیپ‌های مختلف (۱۰ ژنوتیپ شامل G10، G11، G12، G16، G18، G22، G23، G25، پونسیروس و رافلمون) و تیمارهای آبیاری (شاهد و قطع آبیاری) بودند. در این تحقیق، رطوبت وزنی بستر محاسبه و با توجه به منحنی خصوصیات رطوبتی خاک، پتانسیل ماتریک بستر کشت بدست آمد که در تیمار شاهد ۰/۰۳- مگاپاسکال و در تیمار تنش شدید ۱/۵- مگاپاسکال بود (شکل ۱).

در تیمار تنش، درشروع آزمایش همانند آزمایش اول گلدان‌ها بطور کامل آبیاری شدند و بعد از زهکشی کامل و خروج آب اضافی با کیسه پلاستیکی سیاه پوشیده و قسمت پایین ساقه جهت ممانعت از تبخیر و از دست‌دهی آب کاملا بسته شد. سپس قطع آبیاری انجام شد البته در تیمار شاهد آبیاری صورت گرفت. در انتهای آزمایش (یک هفته قبل از زمان بقاء) نیز، از هر تیمار در هر تکرار یک دانهال را انتخاب و از گلدان خارج کرده و پس از شستن ریشه‌ها با آب و سپس آب مقطر، اندام‌هوایی (شاخه و برگ)، از قسمت ریشه جدا و وزن هر قسمت بر حسب گرم با استفاده از ترازوی دیجیتال (مدل GM 6101 ساخت کشور آلمان) اندازه‌گیری شد. سپس هر یک از قسمت‌ها به صورت جداگانه درون پاکت‌های کاغذی و درون آون قرار داده شدند. نمونه‌ها پس از خشک‌شدن در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت، از آون خارج شده و وزن خشک آن‌ها با استفاده از ترازوی دیجیتال اندازه‌گیری شد (Rodríguez-Gamir *et al.*, 2010).

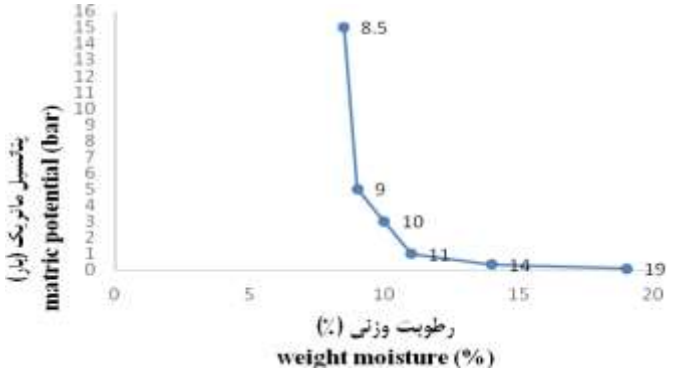
جهت تعیین محتوای نسبی آب برگ، چهار برگ بالغ کاملا توسعه یافته یکنواخت از قسمت وسط ساقه هر کدام از تیمارها در هر تکرار (دو برگ از هر دانهال) انتخاب و در پاکت پلاستیکی به آزمایشگاه منتقل و با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم (مدل KERN ALS 120-4 ساخت کشور آلمان)، وزن تر برگ‌ها اندازه‌گیری شد. سپس درون یک بشر محتوی آب مقطر و در محیط تاریک به مدت یک شبانه‌روز قرارگرفته و وزن اشباع یا آماس آن‌ها اندازه‌گیری شد. پس از آن، ابتدا برگ‌ها با دستمال کاغذی خشک شده، سپس در پاکت کاغذی گذاشته و درون آون ۸۰ درجه به مدت ۲۴ ساعت قرار داده و وزن خشک آن‌ها تعیین شد (Morgan, 1984). محتوای نسبی آب برگ به صورت زیر بیان می‌شود:

$$RWC= [(FW-DW) / (TW-DW)] \times 100 \qquad (۱)$$ رابطه

که در آن FW وزن تر (گرم)، DW وزن خشک (گرم) و TW وزن برگ در حالت اشباع است.

برای تعیین نشت یونی یا پایداری نسبی غشای سلولی، چهار برگ بالغ کاملا توسعه یافته یکنواخت از قسمت وسط ساقه هر کدام از تیمارها در هر تکرار (دو برگ از هر دانهال) انتخاب و در پاکت پلاستیکی به آزمایشگاه منتقل شد. سپس سه مرتبه با آب مقطر و هر بار به مدت ۱۰ دقیقه شستشو و در محیط آزمایشگاه خشک شد.

1- *Poncirus trifoliate* Raf.
2- *Citrus jambhiri* Lush.



شکل ۱- منحنی خصوصیات رطوبتی بستر کشت
Figure 1- Culture medium moisture characteristics curve

از هر برگ، چهار قطعه یکسان هر کدام به قطر تقریبی یک سانتی‌متر از دو طرف رگبرگ اصلی جدا نموده و در لوله آزمایش درپوش‌دار محتوی ۱۵ میلی‌لیتر آب مقطر قرار داده شد. نشت یونی اولیه پس از ۲۴ ساعت تکان تدریجی در دمای آزمایشگاه روی شیکر اندازه‌گیری و سپس نمونه‌ها در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آبی قرار داده شدند و نشت یونی ثانویه پس از خنک شدن و رسیدن به دمای آزمایشگاه تعیین شد (Whitlow *et al.*, 1992).

رابطه (۲) $EL (\%) = (EL1/EL2) \times 100$

EL1 نشت یونی اولیه و EL2 نشت یونی نهایی است.

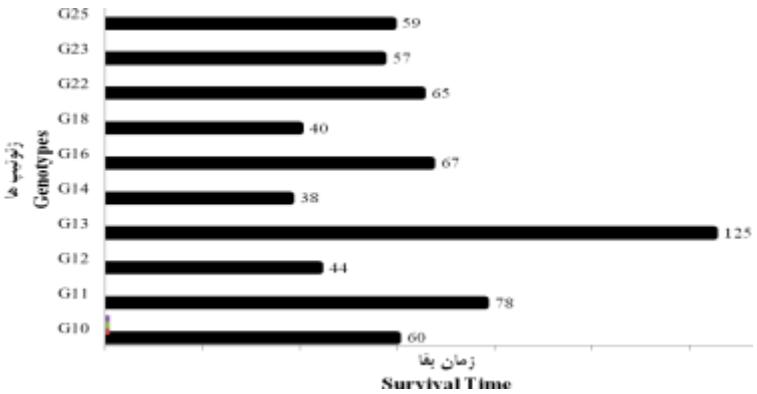
آزمایش اول با ۱۰ تیمار (ژنوتیپ‌های مختلف) ، شش تکرار و یک دانهال در هر واحد آزمایشی و آزمایش دوم با ۲۰ تیمار (دو فاکتور شامل ۱۰ ژنوتیپ مختلف و دو تیمار آبیاری)، سه تکرار و دو دانهال در هر واحد آزمایشی انجام شد. برای تجزیه آماری و تجزیه واریانس از نرم افزار SAS نسخه ۹/۱ و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

نتایج و بحث

آزمایش اول

دوره بقاء

بررسی طول دوره بقاء ژنوتیپ‌ها نشان داد پونسیروس (G13) بیش‌ترین دوره بقاء (۱۲۵ روز) را داشت. بعد از آن G11، G16 و G22 به ترتیب با دوره بقاء ۷۸، ۶۷ و ۶۵ روز قرار گرفتند. همچنین رافلمون (G14)، کم‌ترین دوره بقاء (۳۸ روز) را نشان داد که بعد از آن G18 و G12 به ترتیب با دوره بقاء ۴۰ و ۴۴ روز واقع شدند (شکل ۲).

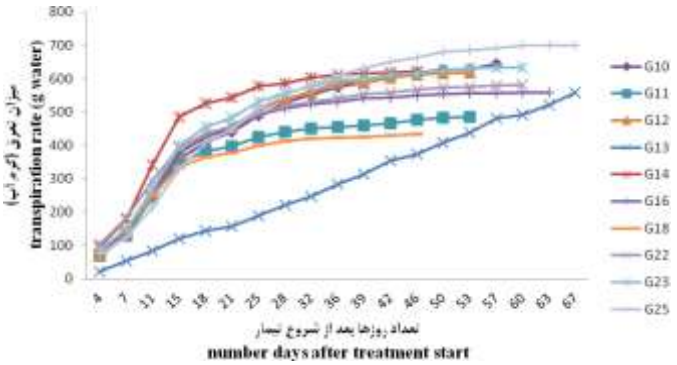


شکل ۲- زمان بقاء ژنوتیپ‌های مختلف مرکبات
Figure 2- Survival time of different Citrus genotypes

روند طول دوره بقاء ژنوتیپ‌ها طی دوره تنش شدید خشکی (قطع آبیاری) نشان داد پونسیروس (G13) و G11 متحمل‌تر و رافلمون

(G14)، G18 و G12 حساس‌تر از بقیه بودند. سایر ژنوتیپ‌ها نیز در حد متوسطی قرار داشتند (شکل ۲).

مقایسه روند مصرف آب در ژنوتیپ‌ها نشان داد پونسیروس کندترین مصرف آب و رافلمون سریع‌ترین مصرف آب را دارند (شکل ۳). مقدار مصرف آب در پونسیروس طی دوره بقاء طولانی آن، کم‌تر از رافلمون بوده است یعنی مقدار آب کم‌تری را در طول یک دوره طولانی و با روند کندتری مصرف کرده و رافلمون مقدار آب بیش‌تر را در طول یک دوره کوتاه و با روند سریع‌تر در مقایسه با پونسیروس مصرف نموده است.



شکل ۳- تفاوت مصرف آب در ژنوتیپ‌های مرکبات

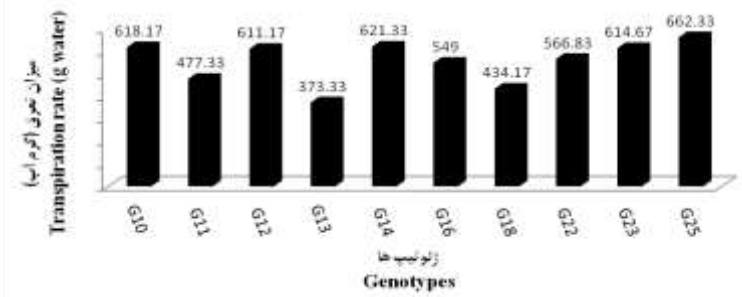
Figure 3- Water consumption variation in Citrus genotypes

همان‌طوری که در نتایج نیز مشهود است پونسیروس بیش‌ترین و رافلمون کم‌ترین دوره بقاء و تحمل را نسبت به شرایط خشکی شدید (قطع آبیاری) داشتند. کندترین زمان مصرف آب در پونسیروس و سریع‌ترین زمان مصرف آبی نیز در رافلمون مشاهده شد (شکل ۳). این نتایج با مطالعات رودریگز گیمیر و همکاران (Rodríguez-Gamir *et al.*, 2010) در پونسیروس مطابقت داشت.

این موضوع با توجه به سطحی بودن ریشه‌ها در پونسیروس و همچنین برخورداری از برگ‌های کوچک و بالطبع مصرف کم‌تر و کندتر آب قابل توجیه است. لذا پونسیروس از دوره بقاء و تحمل بالاتری برخوردار است. در رافلمون نیز عمیق بودن ریشه‌ها و داشتن برگهای بزرگ می‌تواند دلیلی بر مصرف بیش‌تر و سریع‌تر آب و در نتیجه دوره بقاء و تحمل پایین‌تر باشد هر چند نقش سایر عوامل و شاخص‌های فیزیولوژی و بیوشیمیایی را نمی‌توان نادیده گرفت.

تعرق کل

بر اساس نتایج حاصله، میزان تعرق کل (تعرق تجمعی) در تمام ژنوتیپ‌ها طی دوره آزمایش افزایش یافت هر چند این میزان در ژنوتیپ‌های مختلف با یکدیگر اختلاف نشان داد. بیش‌ترین تعرق کل در G25 و کم‌ترین آن در پونسیروس مشاهده شد. همچنین در تمام ژنوتیپ‌ها با ادامه خشکی پیش‌رونده میزان تعرق کاهش یافت. البته این کاهش در رافلمون بیش‌تر و در پونسیروس کم‌تر از بقیه بود (شکل ۴).



شکل ۴- میزان تعرق در ژنوتیپ‌های مرکبات

Figure 4- The transpiration rate of the Citrus genotypes

گارسیا سانچزا و همکاران (Garcıa-Sancheza *et al.*, 2007) با قطع آبیاری به مدت نه روز مشاهده کردند میزان تعرق در برگ‌های هر دو ژنوتیپ مورد مطالعه کاهش یافت که این میزان در کلئوپاتراماندارین کم‌تر از کاریزوسیترنج بود. تفاوت بین ژنوتیپ‌ها در پاسخ به خشکی پیش‌رونده در پژوهش الابسی (Al-Absi, 2009) نیز دیده شد که پرتقال واشنگتن‌ناول کاهش کمتری در میزان تعرق در طول دوره نشان داد و حساسیت بیشتری نسبت به خشکی داشت.

تاثیر خشکی بر کاهش تعرق و تفاوتی که بین ژنوتیپ‌های مختلف در این زمینه وجود دارد در پژوهش‌های سایر محققان نیز دیده شده است. سیمو و همکاران (Cimo *et al.*, 2013) کاهش بیش‌تری را در میزان تعرق سیتروملو نسبت به کلئوپاتراماندارین مشاهده نمودند. در گزارشات سیو و همکاران (Save *et al.*, 1995) نیز به کاهش تعرق در تانگور در مقایسه با پرتقال اشاره شد. سایر مطالعات نیز حاکی از آن است که با افزایش تنش خشکی، تعرق نیز کاهش یافته تا گیاه بتواند با کم‌آبی مقابله کند هر چند که برخی ژنوتیپ‌ها با مقاومت در برابر کاهش تعرق بطرق مختلف، از توقف یا حتی کاهش رشد ممانعت می‌کنند.

آزمایش دوم

وزن تر و خشک اندام‌ها

وزن تر برگ

مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ و سطوح آبیاری بر وزن تر برگ نشان داد ژنوتیپ‌های G11 و G22 در وضعیت بدون تنش (شاهد) به ترتیب با ۳۴/۶۷ و ۳۶/۰۲ گرم بیش‌ترین و پونسیروس در وضعیت تنش (قطع آبیاری) با ۲/۵۶ گرم کم‌ترین وزن تر برگ را داشتند. G18 شاهد بعد از G11 و G22 شاهد بیش‌ترین و پونسیروس شاهد کم‌ترین وزن تر برگ را بعد از پونسیروس تنش نشان دادند (جدول ۱).

خشکی در G11 و G22 باعث کاهش معنی‌دار وزن تر برگ در مقایسه با شاهد شد. در سایر ژنوتیپ‌ها اختلاف معنی‌داری ایجاد نشد. در واقع می‌توان گفت خشکی باعث شد تا وزن تر برگ در G22 و G11 کاهش یابد و در مقایسه با شاهد به ترتیب ۰/۳۷ و ۰/۴۸ برابر شود. بنابراین بیش‌ترین کاهش ناشی از خشکی در G22 و کم‌ترین کاهش در G11 دیده شد (جدول ۱). نتایج حاصل از مطالعه وزن تر برگ در این تحقیق با مطالعه دانهال‌های ۱۰ پایه مختلف مرکبات (Beniken *et al.*, 2013) و بررسی دانهال‌های گلدانی ولکامریانا تحت تیمارهای تنش خشکی (Haghighatnia *et al.*, 2011) مطابقت داشت.

وزن تر ریشه

مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ و سطوح آبیاری بر وزن تر ریشه نشان داد راف‌لمون شاهد با ۳۳/۳۷ گرم بیش‌ترین و پونسیروس تنش با ۷/۱۰ گرم کم‌ترین وزن تر ریشه را داشتند. G11، G18، G22 و G23 شاهد بعد از راف‌لمون شاهد بیش‌ترین و G22 تنش و G25 شاهد کم‌ترین وزن تر ریشه را بعد از پونسیروس تنش نشان دادند (جدول ۱).

خشکی در G11، G18، G22 و G23 باعث کاهش معنی‌دار وزن تر ریشه در مقایسه با شاهد شد. در سایر ژنوتیپ‌ها اختلاف معنی‌داری ایجاد نشد. در واقع خشکی باعث شد تا وزن تر ریشه در G22، G23، G11 و G18 کاهش یابد و در مقایسه با شاهد به ترتیب ۰/۳۵، ۰/۴۶، ۰/۴۷ و ۰/۵۲ برابر شود. بنابراین بیش‌ترین کاهش ناشی از خشکی در G22 و کم‌ترین کاهش در G18 دیده شد (جدول ۱). نتایج حاصل از مطالعه وزن تر ریشه در این تحقیق با بررسی تاثیر کم‌آبی و میکوریزا در دانهال‌های راف‌لمون گلدانی (Levyt and Syvertsen, 1983) مطابقت داشت.

وزن تر شاخه

مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ و سطوح آبیاری بر وزن تر شاخه نشان داد G11 شاهد با ۶۰/۹۵ گرم بیش‌ترین و پونسیروس تنش با ۷/۰۴ گرم کم‌ترین وزن تر شاخه را داشتند. G22 و راف‌لمون شاهد بعد از G11 شاهد بیش‌ترین و پونسیروس شاهد و G16 شاهد کم‌ترین وزن تر شاخه را بعد از پونسیروس تنش نشان دادند (جدول ۱).

خشکی در G11 و G22 باعث کاهش معنی‌دار وزن تر شاخه در مقایسه با شاهد شد. در سایر ژنوتیپ‌ها اختلاف معنی‌داری ایجاد نشد. در واقع می‌توان گفت خشکی باعث شد تا وزن تر شاخه در G22 و G11 کاهش یابد و در مقایسه با شاهد به ترتیب ۰/۴۷ و ۰/۵۴ برابر شود. بنابراین بیش‌ترین کاهش ناشی از خشکی در G22 و کم‌ترین کاهش در G11 دیده شد (جدول ۱). نتایج حاصل از مطالعه وزن تر شاخه در این تحقیق با مطالعه دانهال‌های ۱۰ پایه مختلف مرکبات (Beniken *et al.*, 2013) و مطالعه دانهال‌های نارنگی (Wu *et al.*, 2007) مطابقت داشت.

وزن تر کل

مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ و سطوح آبیاری بر وزن تر کل گیاه نشان داد G11 شاهد با ۹۱/۴۳ گرم بیش‌ترین و پونسیروس تنش با ۱۴/۱۴ گرم کم‌ترین وزن تر کل گیاه را داشتند. G22، راف‌لمون، G18 و G23 شاهد بعد از G11 شاهد بیش‌ترین و

پونسیروس و G16 شاهد، G25 تنش، G25 شاهد، G16 و G22 تنش کم‌ترین وزن تر کل گیاه بعد از پونسیروس تنش را نشان دادند (جدول ۱).

خشکی در G11 و G22 باعث کاهش معنی‌دار وزن تر کل گیاه در مقایسه با شاهد شد. در سایر ژنوتیپ‌ها اختلاف معنی‌داری ایجاد نشد. در واقع می‌توان گفت خشکی باعث شد تا وزن تر کل گیاه در G22 و G11 کاهش یابد و در مقایسه با شاهد به ترتیب ۰/۴۲ و ۰/۵۲ برابر شود. بنابراین بیش‌ترین کاهش ناشی از خشکی در G22 و کم‌ترین کاهش در G11 دیده شد (جدول ۱). نتایج حاصل از مطالعه وزن تر برگ در این تحقیق با مطالعه دانهال‌های ۱۰ پایه مختلف مرکبات (Beniken *et al.*, 2013) و بررسی دانهال‌های گلدانی ولکامریانا تحت تیمارهای تنش خشکی (Haghighatnia *et al.*, 2011) مطابقت داشت.

نسبت وزن تر ریشه به شاخه

مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ و سطوح آبیاری بر نسبت وزن تر ریشه به شاخه نشان داد پونسیروس تنش با ۱/۰۰ بیش‌ترین و G10 شاهد با ۰/۳۲ کم‌ترین نسبت وزن تر ریشه به شاخه را داشتند. پونسیروس شاهد بعد از پونسیروس تنش بیش‌ترین و G18، G12، G10 و G23 تنش کم‌ترین نسبت وزن تر ریشه به شاخه را بعد از ژنوتیپ G10 شاهد نشان دادند (جدول ۲).

خشکی در G18 و G23 باعث کاهش معنی‌دار وزن تر ریشه به شاخه در مقایسه با شاهد شد. در سایر ژنوتیپ‌ها اختلاف معنی‌داری ایجاد نشد. در واقع می‌توان گفت خشکی باعث کاهش وزن تر ریشه به شاخه در G18 و G23 به ترتیب به میزان ۰/۶۱ و ۰/۶۵ برابر شد. بنابراین بیش‌ترین کاهش ناشی از خشکی در G18 و کم‌ترین کاهش در G23 دیده شد (جدول ۲).

جدول ۱- اثرات متقابل ژنوتیپ × سطح آبیاری بر وزن تر برگ، ریشه، شاخه و کل

Table 1- The interaction effect of genotype ×irrigation level on some Citrus characteristics

ژنوتیپ Genotype	آبیاری Irrigation	وزن تر برگ Leaf fresh weight	وزن تر ریشه Root fresh weight	وزن تر شاخه Shoot fresh Weight	وزن تر کل Total fresh Weight
10	+	23.1 b-f	14.73 f-k	45.53 a-i	60.26 b-i
10	−	13.3 f-m	13.46 f-k	32.3 e-l	45.76 e-k
11	+	34.67 a	30.49 a-d	60.95 a	91.43 ab
11	−	16.48 e-k	14.46 f-k	32.74 e-l	47.2 d-j
12	+	22.27 b-h	24.34 b-f	47.51 a-g	71.85 a-f
12	−	14.42 f-l	14.03 f-k	34.76 d-l	48.79 d-j
13	+	3.57 mn	15.43 e-k	15.97 lmn	31.4 ijk
13	−	2.56 n	7.10 jk	7.04 n	14.14 k
14	+	23.18 b-f	33.37 ab	52.75 a-e	86.12 abc
14	−	12.95 f-m	22.65 b-g	36.51 c-l	59.16 c-i
16	+	8.56 j-n	9.18 h-k	19.17 k-n	28.35 ijk
16	−	9.96 i-n	13.77 f-k	11.76 mn	23.63 jk
18	+	25.05 b-e	29.33 a-d	45.89 a-h	75.12 a-e
18	−	17.46 d-k	15.2 e-k	39.89 b-k	55.09 c-j
22	+	36.02 a	33.13 ab	58.14 ab	91.27 ab
22	−	13.33 f-m	11.67 g-k	27.04 g-n	38.71 g-k
23	+	23.12 b-f	31.03 abc	47.17 a-g	78.2 a-d
23	−	14.25 f-l	14.15 f-k	32.82 e-l	46.97 d-j
25	+	14.79 f-l	11.23 g-k	23.24 j-n	34.47 h-k
25	−	11.24 i-n	12.24 f-k	15.26 lmn	22.79 jk

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون در سطح احتمال ۱ درصد با استفادهاز آزمون چنددامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means in each column followed by similar letters are not significantly different at 1% of probability level based on DMRT.

جدول ۲- اثرات متقابل ژنوتیپ × سطح آبیاری بر وزن تر و خشک ریشه به شاخه، نسبی آب برگ و نشت یونی

Table 2- The interaction effect of genotype ×irrigation level on some Citrus characteristics

ژنوتیپ Genotype	آبیاری Irrigation	وزن تر ریشه/شاخه Root/Shoot fresh weight	وزن خشک ریشه/شاخه Root/shoot dry weight	محتوی نسبی آب برگ Leaf water relative content	نشت یونی Ion leakage
10	+	0.32 s	0.37 s	83.75 abc	18.35 nop
10	−	0.41 p-s	0.47 m-s	39.47 j-m	67.14 hi
11	+	0.51 h-r	0.47 m-s	91.49 ab	11.93 op
11	−	0.43 n-s	0.47 m-s	42.36 i-m	69.83 ghi
12	+	0.51 h-r	0.5 j-s	82.02 bc	14.4 nop
12	−	0.40 qrs	0.46 m-s	34.37 lmn	78.59 d-g
13	+	0.98 ab	0.62 e-k	81.07 bc	9.77 p
13	−	1.00 a	0.81 abc	42.17 i-m	31.85 lm
14	+	0.63 c-h	0.84 a	85.13 abc	14.7 nop
14	−	0.63 c-i	0.81 abc	49.42 g-j	69.43 ghi
16	+	0.48 j-r	0.45 n-s	82.88 bc	20.97 nop
16	−	0.5 h-r	0.69 cde	42.28 i-m	68.83 ghi
18	+	0.63 c-h	0.59 e-n	82.22 bc	12.19 op
18	−	0.38 rs	0.62 e-k	32.32 mn	73.16 f-i
22	+	0.58 d-m	0.52 h-q	91.45 ab	12.88 nop
22	−	0.44 m-s	0.5 j-s	37.59 klm	84.69 b-e
23	+	0.65 c-g	0.5 i-s	90.05 ab	12.48 op
23	−	0.42 o-s	0.52 g-q	34.39 lmn	93.4 abc
25	+	0.49 i-r	0.57 e-o	83.32 bc	18.82 nop
25	−	0.53 g-q	0.62 e-k	45.13 h-l	81.09 def

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون در سطح احتمال ۱ درصد با استفادهاز آزمون چنددامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means in each column followed by similar letters are not significantly different at 1% of probability level based on DMRT.

نسبت وزن خشک ریشه به شاخه

مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ و سطوح آبیاری بر نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی نشان داد رافلمون شاهد با ۰/۸۴ بیش‌ترین و G10 شاهد با ۰/۳۷ کم‌ترین نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی را داشتند. پونسیروس و رافلمون تنش بعد از رافلمون شاهد بیش‌ترین نسبت را نشان دادند (جدول ۲).

خشکی در پونسیروس و G16 باعث افزایش معنی‌دار نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی در مقایسه با شاهد شد. در سایر ژنوتیپ‌ها اختلاف معنی‌داری ایجاد نشد. در واقع می‌توان گفت خشکی باعث شد تا نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی در پونسیروس و G16 افزایش یابد و در مقایسه با شاهد به ترتیب ۱/۳ و ۱/۵۶ برابر شود. بنابراین بیش‌ترین افزایش ناشی از خشکی در G16 و کم‌ترین افزایش در پونسیروس دیده شد (جدول ۲).

نتایج حاصل از مطالعه وزن تر و خشک اندام‌ها در این تحقیق با بررسی تاثیر کم‌آبی و میکوریزا در دانهال‌های رافلمون گلدانی (Levyt and Syvertsen, 1983)، مطالعه دانهال‌های ۱۰ پایه مختلف مرکبات (Beniken *et al.*, 2013)، مطالعه دانهال‌های نارنگی (Wu *et al.*, 2007)، بررسی دانهال‌های گلدانی ولکامریانا تحت تیمارهای تنش خشکی (Haghighatnia *et al.*, 2011) و غیره مطابقت داشت. کاهش وزن تر ریشه و اندام‌های هوایی و افزایش وزن خشک ریشه و ریشه به شاخه در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، موضوعی است که محققان فوق نیز در نتایج بررسی‌های خود بدان اشاره نموده‌اند و این بخاطر از دست‌دهی آب از سطح دانهال‌ها و کاهش محتوای آب درونی گیاه است ضمن آنکه جابجایی و انتقال کربوهیدرات‌ها و سایر مواد به اندام زیرزمینی دانهال‌ها منجر به افزایش وزن خشک آن‌ها گردید.

محتوی نسبی آب برگ

مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ و سطوح آبیاری بر محتوی نسبی آب برگ نشان داد G11 شاهد با ۹۱/۴۹ درصد بیش‌ترین و G18 تنش با ۳۲/۳۲ درصد کم‌ترین محتوی نسبی آب برگ را داشتند. G22، G23، G10، رافلمون، G12، پونسیروس، G16 و G18 شاهد بعد از G11 شاهد بیش‌ترین و G18، G12، G23، G22 و G10 تنش کم‌ترین محتوی نسبی آب برگ را بعد از G18 تنش

نشان دادند (جدول ۲).

تنش خشکی در تمامی ژنوتیپ‌ها باعث کاهش معنی‌دار محتوی نسبی آب برگ در مقایسه با شاهد شد. خشکی باعث شد تا محتوی نسبی آب برگ به ترتیب در G23، G18، G22، G12، G11، G10، G16، پونسیروس، G25 و راف‌لمون کاهش یابد و در مقایسه با شاهد به ترتیب ۰/۳۸، ۰/۳۹، ۰/۴۱، ۰/۴۲، ۰/۴۶۳، ۰/۴۷۱، ۰/۵۱، ۰/۵۲، ۰/۵۴۲ و ۰/۵۸ برابر شود. بنابراین بیش‌ترین کاهش ناشی از خشکی در G23 و کم‌ترین کاهش در راف‌لمون دیده شد (جدول ۲).

در این پژوهش، در تمامی ژنوتیپ‌ها کاهش معنی‌دار محتوی نسبی آب برگ در مقایسه با شاهد در اثر خشکی دیده شد. در شرایط تنش، G18، G12 و G23 کم‌ترین محتوای نسبی آب برگ را داشتند. بنابراین G18 و G12 بترتیب با ۳۲/۳۲ و ۳۴/۳۷ درصد به دلیل حفظ کم‌تر آب، حساس به خشکی هستند (جدول ۲).

درصد نشت یونی

مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ و سطوح آبیاری بر درصد نشت یونی نشان داد G23 تنش با ۹۶/۶۳ درصد بیش‌ترین و پونسیروس شاهد با ۹/۷۷۳ درصد کم‌ترین درصد نشت یونی را داشتند. تنش خشکی در تمامی ژنوتیپ‌ها باعث افزایش معنی‌دار درصد نشت یونی در مقایسه با شاهد شد. خشکی باعث شد تا درصد نشت یونی در پونسیروس، G16، G10، G25، راف‌لمون، G12، G11، G18، G22 و G23 افزایش یابد و در مقایسه با شاهد به ترتیب ۳/۲۶، ۳/۲۸، ۳۱/۶۶، ۴/۳، ۴/۷۲، ۵/۴۶، ۵/۸۵، ۶، ۶/۵۸ و ۷/۴۸ برابر شود. بیش‌ترین افزایش ناشی از خشکی در G23 و کم‌ترین افزایش در پونسیروس دیده شد (جدول ۲).

در این تحقیق، در تمامی ژنوتیپ‌ها افزایش معنی‌دار درصد نشت یونی در مقایسه با شاهد در اثر خشکی دیده شد. در شرایط تنش G23، G22، G25، G12 و G18 بیش‌ترین و پونسیروس کم‌ترین درصد نشت یونی را داشتند. بنابراین G12 و G18 بترتیب با ۷۸/۵۹ و ۷۳/۱۶ درصد نشت یونی به دلیل تخریب بیش‌تر در شرایط تنش، حساس در برابر خشکی و پونسیروس نیز با ۳۱/۸۵ درصد به دلیل تخریب کم‌تر، متحمل به خشکی هستند (جدول ۲).

این نتایج در تحقیق انجام شده در پایه فورنر آلکائید ۵ (Rodríguez-Gamir *et al.*, 2010)، مطالعه دو پایه کاریزوسیترنج و کلئوپاترامانداریـن (Garcıa-Sancheza *et al.*, 2007)، بررسی دانهال‌های سه ماهه ۱۰ پایه مختلف مرکبات (Beniken *et al.*, 2013)، مطالعه یک سیکل خشکی در نهال‌های شش ماهه پرتقال نیوهال و تانگور الندیل (Save *et al.*, 1995) و مطالعه پرتقال والنسیا روی پایه‌های رانگ‌پورلایم دیپلوییدی و تتراپلوییدی (Allario *et al.*, 2012) نیز مشاهده شد. کمبود آب در خاک منجر به کاهش آب درون گیاه می‌شود. برخی گیاهان با داشتن مکانیسم‌های تحمل می‌توانند محتوای نسبی آب درون خود را حفظ کرده و یا از کاهش زیاد آن خودداری کنند بدین ترتیب نسبت به خشکی مقاومت بیش‌تری از خود نشان می‌دهند. در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در این پژوهش، همگی با کاهش محتوای نسبی آب برگ مواجه شدند ولی برخی از آن‌ها توانستند آب بیش‌تری را در مقایسه با شاهد در خود نگهدارند که با نتایج تحقیقات مورد اشاره مطابقت داشت.

همچنین بررسی واکنش پنج رقم انگور (Ghaderi *et al.*, 2010) و مطالعه تنش خشکی در ارقام سیب ویستا بلا و گلابی سانتا ماریا (Bolat *et al.*, 2014) نیز نشان داد با افزایش سطوح تنش آبی، درصد نشت یونی افزایش داشت. ممانعت از نشت یونی و تخریب سلولی یکی دیگر از راهکارهای مقابله با خشکی در گیاهان است در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه فقط در پونسیروس علیرغم اینکه نشت یونی داشتیم ولی در مقایسه با شاهد و سایر ژنوتیپ‌ها میزان تخریب کم‌تری اتفاق افتاد و نشت یونی کم‌تری دیده شد. همین موضوع مبین تحمل آن نسبت به تنش خشکی است.

نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد در آزمایش اول دانهال‌های پونسیروس و G11 از دوره بقاء طولانی‌تری برخوردار بوده و متحمل‌تر هستند و راف‌لمون و G12 نیز حساس‌تر از بقیه بودند. سایر ژنوتیپ‌ها نیز در حد متوسطی قرار داشتند. کندترین زمان مصرف آب در پونسیروس، سریع‌ترین زمان مصرف آب در راف‌لمون، همچنین بیش‌ترین میزان تعرق تجمعی در G25 و کم‌ترین آن در پونسیروس دیده شد. در آزمایش دوم نیز بیش‌ترین کاهش وزن تر برگ، شاخه و کل ناشی از خشکی در G22 و کم‌ترین کاهش در G11 مشاهده شد. بیش‌ترین کاهش وزن تر ریشه ناشی از خشکی در مقایسه با شاهد در G22 با ۰/۳۵ برابر و کم‌ترین کاهش در G18 با ۰/۵۲ برابر و همچنین بیش‌ترین کاهش وزن تر ریشه به شاخه ناشی از خشکی در مقایسه با شاهد در G18 با ۰/۶۱ برابر دیده شد. بیش‌ترین افزایش وزن خشک ریشه به شاخه ناشی از خشکی در مقایسه با شاهد در G16 (۱/۵۶ برابر) و کم‌ترین افزایش در پونسیروس (۱/۳ برابر) مشاهده شد. در شرایط تنش، G18 و G12 نیز بترتیب با ۳۲/۳۲ و ۳۴/۳۷ درصد کم‌ترین محتوای نسبی آب برگ را در مقایسه با شاهد داشتند. در شرایط تنش G12 و G18 بترتیب با ۷۸/۵۹ و ۷۳/۱۶ درصد بیش‌ترین و پونسیروس با ۳۱/۸۵ درصد کم‌ترین نشت یونی را داشتند. بنابراین با توجه به نتایج به دست آمده از این پژوهش می‌توان راف‌لمون و G12 و G18 را بعنوان حساس در برابر خشکی و پونسیروس و G11 را نیز بعنوان متحمل به خشکی معرفی نمود.

سپاسگزاری

این مقاله برگرفته از گزارش نهایی پروژه تحقیقاتی پایان‌یافته پژوهشکده مرکبات و میوه‌های نیمه‌گرمسیری وابسته به سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی با شماره فروست ۵۱۳۲۷ مورخ ۹۶/۰۲/۱۶ است که از حمایت مالی آن مجموعه قدردانی می‌شود.

منابع

1. Al-Absi Kh.M. 2009. Gas exchange, chlorophyll and growth response of three orange genotypes (*citrus sinensis* [L.] Osbeck) to abscisic acid under progressive water deficit, Jordan Journal of Agricultural Sciences 5(4): 421-433.
2. Alizadeh A., Alizadeh V., Nassery L., and Eivazi A. 2011. Effect of drought stress on apple dwarf rootstocks, Technical Journal of Engineering and Applied Science 3: 86-94.
3. Allario Th., Brumos J., Colmenero-Flores J.M., Pina J.A., Navarro L., Talon M., Ollitrault P., and Morillon R. 2012. Tetraploid rangpur lime rootstock increases drought tolerance via enhanced constitutive root abscisic acid productionpce, Plant, Cell and Environmet, Pce-12021, 13 Pages.
4. Arji E., Arzani K., and Ebrahimzadeh H. 2003. Accumulation of proline and total soluble sugars in five cultivars *olea europaea* L. exposed to drought stress, Iran Biology Journal 16(4). (In Persian with Engligh abstract)
5. Beniken L., Omari F.E., Dahan R., Van Damme P., Benkirane R., and Benyahia H. 2013. Screening of ten citrus rootstocks to drought stress, In 1st International Plant Breeding congress,10-14 November 2013, Antalya, Turkey.
6. Bolat I., Dikilitas M., Ercisli S., Ikinci A., and Tonkaz T. 2014, The effect of water stress on some morphological, physiological and biochemical characteristics and bud success on apple and quince rootstocks, Scientific World Journal, Article ID 769732: 1-8.
7. Cimo G., Lo Bianco R., Gonzalez P., Bandaranayake W., Etxeberria E., and Syvertsen J.P. 2013. "Carbohydrate and Nutritional Responses to Stem Girdling and Drought Stress with Respect to Understanding Symptoms of huanglongbing in Citrus", Hortscience 48(7): 920–928.
8. Fereres E., and Soriano M.A. 2007. Deficit irrigation for reducing agricultural water use, Journal of Experimental Botany 58: 147–159.
9. Fotouhi Ghazvini R., Heidari M., and Hashempour A. 2011. Physiology and molecular biology of stress tolerant in plants, Mashhad University Press. (In Persian)
10. Garcıa-Sancheza F., Syvertsena J.P., Gimenoc V., Botlab P., and Perez-Perezb J.G. 2007. Responses to flooding and drought stress by two citrus rootstock seedlings with different water-use efficiency, Physiologia Plantarum 130: 532–542.
11. Ghaderi N., Talaei E., Ebadi E., and Lesani H. 2010. Effect of drought stress and renewable irrigation on some of the physiological charachteristics in three Vitis cultivar included sahani, frrokhi and white seedless, Iran Horticultural Science Journal 41(2). (In Persian with Engligh abstract)
12. Haghighatnia H., Nadian H.A., and Rejali F. 2011. Effects of mycorrhizal colonization of growth, nutrients uptake and some other characteristics of *Citrus Volkameriana* rootstock under drought stress, World Applied Science Journal 13(5): 1077-1084.
13. Jimenez S., Dridi J., Gutierrez D., Moret D., Jrigoyen J.J., Moreno M.A., and Gogorcena Y. 2013. Physiological, biochemical and molecular responses in four prunus rootstocks submitted to drought stress, Tree Physiology 33(10): 1061-75.
14. Levyt Y., and Syvertsen J.P. 1983. Effect of drought stress and vesicular-arbuscular mycorrhiza on citrus transpiration and hydrolicconductivity of roots, New Physiology 93: 61-66.
15. Marivani F., Ghaderi N., and Javadi T. 2019. Evaluation of Lipid Peroxidation and Antioxidant Reaction of Strawberry to Drought Stress and Dust, Plant Productions 42(4): 536-550.
16. Morgan J.M. 1984. Osmoregulation and water stress in higher plants, Annual Review Plant Physiology 35: 299-319.
17. Nicolosi E. 2007. Origin and Taxonomy, In Khan, I. A. (ed.) Citrus Genetics, Breeding and Biotechnology. CABI, 370.
18. Rabiei V. 2004. Investigation of physiological and morphological responses some of vitis cultivars to drought stress, University of Tehran, PhD thesis. (In Persian with Engligh abstract)
19. Rodríguez-Gamir J., Primo-Millo E., Forner J.B., and Forner-Giner M.A. 2010. Citrus rootstock responses to water stress, Scientia Horticulturae 126: 95-102.
20. Sajedi M., Esna-Ashari M., Jafari M., and AslMoshtaghi E. 2017. Physiological, Morphological and Biochemical Characteristics of Four Edible Fig and two Capri Fig Cultivars in Response to Drought Stress, Plant Production (Scientific Journal of Agriculture) 40(3): 101-112.
21. Save R., Biel C., Domingo R., Ruiz-Sanchez M.C., and Torrecillas A. 1995. Some physiological and morphological characteristics of citrus plants for drought resistance. Plant Science 110: 167-172.

22. Whitlow T.H., Bassuk N.L., Ranney T.G., and Reichert L.D. 1992. An improved method for using electrolyte leakage to assess membrane competence in plant tissues, Plant Physiology 98: 198-205.
23. Wu Q.Sh., Zou Y.N., Xia R.X., and Wang M.Y. 2007. Five *Glomus* species affect water relations of *Citrus tangerine* during drought stress, Botanical Studies 48: 147-154.

Journal of Horticultural Science
https:// jhs.um.ac.ir

Research Article
Vol. 36, No. 1, Spring 2022, p. 117-133

The Effect of Alcoholic Extract of Propolis and Hydro Cooling on Some Postharvest Characteristics of *Cucumis sativus*

V. Anisi[1], Y. Selahvarzi[2]*, M. Kamali[3], B. Abedi[4]

Received: 17-03-2021
Revised: 01-06-2021
Accepted: 22-06-2021
Available Online: 20-06-2022

How to cite this article:
Anisi V., Selahvarzi Y., Kamali M., and Abedi B. 2022. The Effect of Alcoholic Extract of Propolis and Hydro Cooling on Some Postharvest Characteristics of *Cucumis sativus*. Journal of Horticultural Science 36(1): 117-133. (In Persian with English abstract)
DOI: 10.22067/JHS.2021.68874.1020

Introduction

Cucumber is a vegetable with a low capacity for storage; it usually loses quality 14 days from the beginning of storage. The benefits of cold storage are not the same for all the fruit or vegetables, some given vegetables are more suitable for cold storage than others. However, pre-cooling is always advisable, because the products takes profit from the benefits of low temperatures in cold storage rooms. Due to the short shelf life of cucumber and the high speed of reducing its quality, various methods are used to maintain the quality of cucumber, such as edible coatings. Propolis, also called "bee-glue," is a natural resinous substance produced by honeybees from plant exudates, beeswax, and bee secretions in order to defend the hives. Propolis has an important role in prevention of food loss weight and waste, thus helping to ensure food safety and security. The concoction of aqueous propolis extracts has a lower cost as compared to hydroalcoholic extracts and it is believable that both, aqueous and hydro alcoholic extracts, present similar concentrations of phenolic compounds resulting in a product of appropriate functional characteristics. Herein, the biochemical composition and efficacy of propolis in maintaining the postharvest storability of food products were discussed to provide a comprehensive guide to farmers and food processing and storage sectors and to scientists.

Materials and Methods

In order to investigate the effect of two factors of hydro cooling and propolis as an edible coating on cucumber shelf life, this study was conducted in the spring and summer of 2019 in the laboratories of horticultural sciences, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad. The factorial experiment was based on a completely randomized design. Experimental treatments included three levels of propolis alcoholic extract (0, 4 and 8%) and two temperature treatments (4 (hydro cooling temperature) and 25 ° C) in 4 replications.

Weight loss, tissue firmness, extract pH, total soluble solids, chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll, total phenol and antioxidant activity were measured. The experimental data were analyzed using Jump-8 statistical software and the means of treatments were compared by LSD test at 5% probability level.

Results and Discussion

Results showed that the interaction of treatments had an effect on fruit weight loss percentage, firmness, and antioxidant activity, chlorophyll and total soluble solids. Thus, the highest percentage of fruit weight loss was observed in the control treatment (without propolis) in 4°C (5.02%). Foliar application of fruits led to an increase in firmness of fruit tissue with propolis in both concentrations of 4 and 8% compared to the control treatment (no foliar application with propolis) in both temperature treatments. The highest total chlorophyll content was in 8% propolis treatments + temperature of 24 °C (8.96 mg / gfw), treatment of 8% propolis + temperature of 4 °C (8.68 mg/gfw) and treatment of 4% propolis + temperature of 4 °C (7.93 mg/gfw) significantly. In addition,

1, 2, 3 and 4- M.Sc. Student, Assistant Professor, Ph.D. Graduated and Assistant Professor in Horticulture, Horticulture Department, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: selahvarzi@um.ac.ir)

antioxidant activity increased in the treatments of 4 °C+ foliar application with propolis 4 and 8%. In general, although fruits treated with 24 ° C showed more weight loss than 4 °C, the use of both concentrations of propolis improved the above trait, reducing the amount of fruit phenol and tissue firmness and other biochemical traits. Studies have shown that the chemical composition of the propolis samples which a certain breed of bees (*Apis mellifera intermissa*) made have 17 different chemical compounds. They noted that the main phenolic compound was caffeic acid (0.85 mg·g−1 EAP) and the main flavonol compound was pinocembrin (0.82 mg·g−1 EAP). Significant ($P \leq 0.05$) differences were observed in dragon fruit quality when treated with different concentrations of ethanolic extract of propolis (EEP) (0.25, 0.50, 0.75 and 1.0%) and stored at 20 ± 2 °C and 80 ± 5% relative humidity (RH) for 20 days, which matched our results. Passos et al. (2016) reported test panel did not detect significant differences amongst coated and not coated cv. Prata bananas up to six days of storage. Propolis extracts.

Conclusion

In addition to a broad spectrum of antimicrobial activity, contain hydrophobic composites that assist in ameliorating attributes as biodegradable films on fruits.

Keywords: Antioxidant, Chlorophyll, Phenol, Weight Loss

نشریه علوم باغبانی
https:// jhs.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۶، شماره ۱، بهار ۱۴۰۱، ص ۱۳۳-۱۱۷

اثر عصاره الکلی بره‌موم و هیدروکولینگ بر برخی صفات پس از برداشت خیار گلخانه‌ای (*Cucumis sativus*)

وحید انیسی[۱]- یحیی سلاح ورزی[۲*]- مریم کمالی[۳]- بهرام عابدی[۴]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۲/۲۷
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۴/۰۱

چکیده

به دلیل عمر کوتاه پس از برداشت خیار و سرعت بالای کاهش کیفیت آن از روش‌های مختلفی جهت حفظ مرغوبیت خیار مانند پوشش‌های خوراکی استفاده می‌شود. به منظور بررسی اثر دو عامل بره‌موم به عنوان یک پوشش خوراکی و هیدروکولینگ بر ماندگاری خیار، این پژوهش به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل سه سطح عصاره الکلی بره‌موم (صفر، ۴ و ۸ درصد) و دو سطح غوطه‌وری در آب در دمای ۴ و ۲۴ درجه سلسیوس، در چهار تکرار بود. پس از اعمال تیمارها، میوه‌ها به مدت ۲۱ روز در دمای ۱۰ درجه‌سلسیوس نگهداری شدند. نتایج نشان داد برهمکنش دو تیمار فوق بر درصد کاهش وزن میوه، سفتی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، محتوای کلروفیل و مواد جامد محلول اثرگذار بود. بیشترین کاهش وزن میوه در تیمار شاهد (عدم محلول‌پاشی با بره‌موم) در هیدروکولینگ ۴ درجه سلسیوس با میانگین ۵/۰۲۵ درصد مشاهده شد. محلول‌پاشی میوه‌ها با بره‌موم در دو غلظت ۴ و ۸ درصد منجر به افزایش سفتی بافت میوه نسبت به نمونه‌های شاهد در هر دو تیمار دمایی شد. بیشترین میزان کلروفیل کل بدون اختلاف معنی‌دار در تیمارهای بره موم ۸ درصد + دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد (میانگین ۸/۹۶ میلی‌گرم بر گرم) و تیمار ۸ درصد بره‌موم + دمای ۴ درجه سلسیوس (با میانگین ۸/۶۸ میلی‌گرم بر گرم) و تیمار ۴ درصد بره‌موم+ دمای ۴ درجه سلسیوس (با میانگین ۷/۹۳ میلی‌گرم بر گرم) بود. همچنین در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد محلول‌پاشی با بره موم ۴ و ۸ درصد منجر به افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی شد. به طورکلی اگرچه میوه‌های تیمار شده با دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد کاهش وزن بیشتری نسبت به دمای ۴ درجه سلسیوس نشان دادند ولی کاربرد هر دو غلظت بره‌موم منجر به بهبود صفات مربوط به ماندگاری پس از برداشت شد، مقدار فنول میوه را کاهش داد و بر سفتی بافت و سایر صفات بیوشیمیایی اندازه‌گیری شده اثر گذاشت.

واژه‌های کلیدی: درصد کاهش وزن، فنول، فعالیت آنتی‌اکسیدان، کلروفیل

مقدمه

خیار با نام علمی *Cucummis sativus* یکی از مهمترین سبزی‌های کشت‌شده در دنیا می‌باشد. به دلیل عمر کوتاه پس از برداشت خیار و سرعت بالای کاهش کیفیت آن، از روش‌های مختلفی جهت حفظ مرغوبیت خیار مانند پوشش‌های خوراکی، بسته‌بندی اتمسفر کنترل‌شده و یا پارافین استفاده می‌شود. از اساسی‌ترین موارد موجود در خرید و فروش و جابه‌جایی این محصولات، ماندگاری کم و عمر کوتاه بعد برداشت آن‌ها می‌باشد (Lin and Zhao, 2007). شرایط مناسب برای انبارداری خیار ۱۰-۱۲/۵ درجه سانتی‌گراد با رطوبت نسبی ۹۵ درصد است. طول دوره انبارمانی خیار کمتر از ۱۴ روز بوده و کیفیت آن به‌سرعت کاهش می‌یابد (Lin and Zhao, 2007). یکی از روش‌های افزایش ماندگاری و جلوگیری از توسعه بیماری‌ها و آسیب به بافت خیار، استفاده از پوشش‌های طبیعی خوراکی تهیه شده از مواد طبیعی مانند موم‌ها است (Mobli and Pirasteh, 1994). موم‌های مختلفی با روش‌های گوناگون موم‌اندود کردن برای خیار استفاده می گردد. استفاده از موم باعث افزایش هزینه‌های تولید می‌شود اما در کاهش از دست دادن رطوبت خیار اثرگذار بوده و مانع پژمردگی آن می شود و از طرفی باعث حفظ کیفیت در هنگام جابه‌جایی محصول می‌گردد (Mobli and

۱، ۲، ۳ و ۴- به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، استادیار، دانش آموخته دکتری و استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(*- نویسنده مسئول: Email: Selahvarzi@um.ac.ir)
DOI: 10.22067/JHS.2021.68874.1020

(Pirasteh, 1994). یکی از انواع موم‌ها، بره موم است. بره‌موم یا چسب زنبور یکی از فراورده‌های جانبی زنبورعسل است که کاربردهای متنوعی دارد. این ماده شبیه به موم زنبورعسل بوده و خمیری شکل و چسبناک با بویی مطبوع می باشد و دارای رنگ زرد تا قهوه‌ای است (Zahid *et al.*, 2013). استفاده از این پوشش‌ها طعم و مزه و ظاهر بافت میوه را تغییر نداده و در عین حال بازارپسندی محصول را نیز افزایش دهد (Zahid *et al.*, 2013). این پوشش‌ها به‌طور کامل خوراکی و طبیعی بوده و باعث حفظ رطوبت میوه‌ها و سبزی‌ها شده و عمر پس از برداشت آن‌ها را طولانی‌تر می کند. این پوشش ها دارای مواد غذایی مفیدی بوده که خاصیت ضد قارچی داشته و آلودگی و خراب شدن محصولات را در طول مدت انبارداری به تأخیر می‌اندازد (Zahid *et al.*, 2013). مومی کردن محصولات در کنترل کاهش وزن به دلیل کاهش تبخیر و تعرق اثر مفید داشته و مشتری‌پسندی محصول را افزایش می‌دهد (Meidani and Hashemi, 1997). به‌کارگیری موم‌ها برای طولانی‌تر کردن عمر انباری تولیداتی مانند خیار، گوجه فرنگی، فلفل، موز، سیب، مرکبات و اندام‌های خوراکی امری رایج است (Meidani and Hashemi, 1997). در تحقیقی مشخص شد که موم‌های استخراجی از نفت، در طول ۱۴ روز باعث جلوگیری از کاهش ۵۰ درصد وزن میوه خیارها شد ولی فساد خیارهای مومی شده ۱۰۰ درصد بیشتر از خیارهای معمولی در دمای ۲۱ درجه سانتی گراد بود (Meidani and Hashemi, 1997). بعضی از انواع پوشش‌های خوراکی که از ترکیبات صمغی می‌باشند اثر زیادی در طولانی‌تر کردن دوره رسیدگی در تعدادی از میوه‌ها مانند موز، انبه و یا پایا دارند (Ali *et al.*, 2010). صمغ عربی[1] در میوه گوجه‌فرنگی سبب کاهش نرمی بافت و دیرتر خراب شدن آن گردید (Ali *et al.*, 2010). ژلی که از کاکتوس به دست می‌آید و برای پوشش خوراکی استفاده گردید، باعث طولانی‌تر شدن عمر پس از برداشت و انبارمانی بهتر توت‌فرنگی و افزایش خصوصیات کمی و کیفی آن گردید (Del-Valle *et al.*, 2005). در تحقیقی نشان داده شد که توت‌فرنگی‌های تیمار شده با کلسیم‌کلرید و کاراجینان استحکام بافت خود را برای مدت بیشتری حفظ نمودند (Ribeiro *et al.*, 2007; Tzoumaki *et al.*, 2009;). پوشش‌های خوراکی اثر مثبتی در حفظ وزن اولیه مارچوبه و طولانی‌تر کردن زمان به وجود آمدن رنگ ارغوانی آن دارد (Tadelen and Bayindirli, 1998).

خنک کردن میوه‌ها و سبزی‌ها در سیستم آب خنک (هیدروکولینگ) نیز روش مناسب برای افزایش ماندگاری پس از برداشت است (Terue *et al.*, 2004). استفاده از تیمار هیدروکولینگ باعث می‌شود میزان انتقال حرارت در محصولات نسبت به نگهداری در انبار ۱۰ برابر افزایش یابد (Delghando and Wensum, 2001). ترول و همکاران (Terue *et al.*, 2004) میوه‌هایی مانند خربزه، انبه، گواوا، پرتقال، آلو و سبزی‌هایی مانند خیار، هویج و لوبیا سبز پس از برداشت در دمای یک درجه سلسیوس تحت تیمار هیدروکولینگ قرار داد و گزارش کرد دمای هیدروکولینگ به سایز و مدت زمان قرار گرفتن میوه‌ها در تیمار دمای پایین بستگی دارد (Terue *et al.*, 2004).

با توجه به لزوم افزایش عمر انبارداری سبزیجاتی از قبیل خیار و نقش پیش‌تیمار سرمایی و پوشش‌های خوراکی در افزایش ماندگاری و صفات کمی و کیفی پس از برداشت خیار آزمایش فوق طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

تمام مراحل این تحقیق طی سال‌های ۱۳۹۸-۱۳۹۷ در آزمایشگاه‌های گروه علوم و مهندسی باغبانی و فضای سبز دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. این آزمایش به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار و چهار مشاهده در هر تکرار انجام شد. به دلیل تخریبی بودن برخی صفات، اندازه‌گیری‌ها در ۴ مرحله به فواصل ۷ روز انجام شد و نتایج مرحله آخر به‌عنوان نتایج اصلی آزمایش مورد گزارش قرار گفت. فاکتور اول شامل دو سطح غوطه‌وری در آب با دمای ۴ درجه سلسیوس (به‌عنوان تیمار هیدروکولینگ) و ۲۴ درجه سلسیوس (به‌عنوان شاهد برای هیدروکولینگ) و فاکتور دوم شامل سه غلظت بره‌موم (صفر، ۴ و ۸ درصد) بود.

تهیه میوه‌های خیار رقم 'نگین' گلخانه‌ای از استان خراسان در شهر شاندیز و در ۲۰ کیلومتری دانشگاه صورت گرفت. بره‌موم مورد استفاده در این پژوهش از کندوهای زنبور عسل واقع در شهرستان مشهد جمع‌آوری شد. سپس نمونه‌ها در اسرع وقت به آزمایشگاه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی منتقل و تا زمان عصاره گیری در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شدند. جهت تهیه عصاره الکلی بره‌موم، ابتدا قطعات بزرگ بره موم به قطعات ریز خرد شد، سپس ۲۵ گرم از آن با ۲۵۰ میلی لیتر محلول اتانول ۸۰ درصد مخلوط و به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق در سطح افق تکان داده شد (۱۵۰ دور در دقیقه). عصاره الکلی حاصل توسط کاغذ صافی نمره ۴۲ واتمن دو بار صاف شده و به کمک دستگاه روتاری الکل آن تبخیر و عصاره الکلی خالص به‌دست آمد. سپس عصاره خالص بدست آمده توزین و محلول ۴ و ۸ درصد (وزن به حجم) آن در الکل ۸۰ درجه (Merck, Germany) تهیه و تا زمان استفاده در ظرف شیشه ای تیره و دمای ۴ درجه نگهداری شد (Popova *et al.*, 2005). آنالیز شیمیایی عصاره الکلی با GC-MS در جدول ۱ آمده است.

1- Gum arabic

جدول ۱- ترکیب شیمیایی عصاره الکلی بره‌موم

Table 1- Chemical composition of alcoholic extract of Propolis

ترکیبات Compoumds	مقدار Amount (%)	زمان نگهداری Retention Time (min)
Aldehydes		
2-Hydroxy-5-methyIbenza dehyde	2.12	9.44
Flavonoids		
5-Hydroxy-7-methoxy flavanone (pinostrobin)	9	14.14
5,7,40-Trihydroxy flavanone (naringenim)	2.14	16.33
5,7-Dihydroxy flavone (chrysim)	4.91	17.18
Dihydrochrysim	9.69	15.41
Aromatic acids		
3(3,4-Dihydroxyphenyl-2-propenoic (caffeic acid)	5.25	14.45
Sesquiterpeues		
Cis-lanceol	2.12	11.14
Caryophyeneoxide	6.18	12.88
Endesmol	7.38	11.77
6-Hydroxy-1-oxogermacr-4,10(15),11(13)-trien-12,8-olide	0.31	11.43
Triterpenes		
3,12-Oleandione	0.42	18.07
Alcohol		
1-Heptatriac otanol	2.25	11.22
Aliphatic hydrocarbons		
1,5,5-Trimethyl-6-methylene-cyclobexene	3.25	12.12
Alfaxalone	5.19	12.99
Aromatic hydrocarbons		
2-Anino-1-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl) ethanone	5.99	14.41
1,3,8-trihydroxy-6-methylanthracene-9,10-dione	4.26	17.34

مراحل اعمال تیمار

میوه‌های هم اندازه خیار (به طول ۱۲-۱۴ سانتی‌متر) بدون آسیب‌دیدگی فیزیکی به‌صورت مستقیم از گلخانه انتخاب و بلافاصله به محل انجام آزمایش منتقل شدند. دمای داخلی میوه‌ها در زمان برداشت ۲۵ درجه سانتی‌گراد بود. تیمار اول آزمایش، غوطه‌وری میوه‌ها در آب با دو دمای ۴ و ۲۴ درجه سلسیوس بود، برای غوطه‌وری میوه‌ها در آب، دستگاهی جهت تنظیم دقیق دمای آب تعریف و طراحی شد. دستگاه دارای دو حسگر حساس با دقت ۱ درجه سلسیوس بود. بازه دمایی دستگاه قابل تنظیم از ۴- تا ۶۸+ درجه سلسیوس و حجم آبگیری دستگاه ۵۰ لیتر بود. به این منظور دستگاه شستشو داده شده و با وایتکس تجاری ۵ درصد ضدعفونی گردید و مجدد با آب معمولی مورد شستشو قرار گرفت. جهت اعمال تیمار دمایی ۲۴ درجه سلسیوس دمای آب دستگاه روی ۲۴ درجه سلسیوس تنظیم و میوه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در آب غوطه‌ور شدند. برای اعمال تیمار دمایی ۴ درجه سلسیوس (دمای هیدروکولینگ) به‌دلیل هم‌دما نبودن دمای بافت میوه و دمای مورد نظر (۴ درجه سلسیوس)، ابتدا دمای دستگاه روی ۲۴ درجه سلسیوس تنظیم شد و پس از غوطه‌ور شدن میوه‌ها دمای دستگاه روی ۴ درجه سلسیوس تنظیم گردید. با توجه به‌دقت دمای دستگاه هیدروکولینگ که در هر دقیقه ۱ درجه سلسیوس کاهش داشت میوه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در آب غوطه‌ور شد تا دمای آب به ۴ درجه سلسیوس برسد و دمای بافت میوه و آب به اصطلاح هم دما گردد. به منظور اطمینان از هم دما شدن سطح بیرونی و درونی خیار، ثبت دمای عمقی و سطح خیار پس از ۲۰ دقیقه غوطه‌وری در آب انجام شد. پس از هم دما شدن آب و بافت داخلی میوه، میوه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس قرار گرفتند. تیمار دوم مورد بررسی محلول‌پاشی میوه‌ها با غلظت‌های متفاوت بره‌موم در سه سطح صفر، ۴ و ۸ درصد بود. پس از خشک شدن رطوبت حاصل از غوطه‌وری، سطوح متفاوت بره‌موم روی سطح میوه محلول‌پاشی شد. میوه‌های تیمار شده در هوای آزاد به مدت ۳۰ دقیقه خشک شدند. در هر تکرار ۴ عدد میوه خیار در ظروف پلاستیکی درب‌دار قرارگرفت. در ادامه میوه‌ها به مدت ۲۱ روز به انکباتور (مدل ۵۵۵۵، ساخت ایران) با دمای ۱۰ درجه سلسیوس منتقل شدند. نمونه برداری از نمونه ها طی ۲۱ روز به فواصل هفت روز یکبار طی چهار مرحله (روزهای ۱، ۷، ۱۴ و ۲۱) انجام شد و روند تغییرات سفتی بافت، درصد کاهش وزن میوه، کلروفیل و مواد جامد محلول بررسی گردید. همچنین سایر صفات ذیل در مرحله آخر نمونه

برداری مورد اندازه گیری قرار گرفت.

اندازه‌گیری صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی

درصد کاهش وزن: برای محاسبه درصد کاهش وزن میوه‌ها با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ گرم در ابتدای آزمایش و پس از انتقال به آزمایشگاه و نیز به فواصل معین در طول نگهداری در انکیباتور وزن شدند. اندازه‌گیری میزان کاهش وزن میوه‌ها با اندازه‌گیری مجموع وزن میوه‌های هر تکرار در ابتدای آزمایش پس از بیرون آوردن از انکیباتور در هر دوره صورت گرفت. سپس با استفاده از رابطه زیر درصد کاهش وزن اندازه‌گیری شد.

$$V = \frac{W1 - W2}{W1} \times 100$$ رابطه ۱

V: درصد کاهش وزن،W1: وزن اولیه، W2 وزن ثانویه

آزمون سفتی بافت: اندازه‌گیری سفتی بافت خیار با دستگاه سفتی‌سنج مدل OSK-I-10576 صورت گرفت. میزان فشار دستگاه برحسب نیوتن بر مترمربع از روی صفحه دستگاه قرائت گردید. سپس با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید.

$$N = m.g$$ رابطه ۲

m=کیلوگرم جرم ماده (عدد دستگاه)

g=معادل ۹/۸ (ثابت نیوتن)

N= نیروی لازم برای فشردن صفحه درون بافت (نیوتن)

اسیدیته عصاره: جهت اندازه‌گیری اسیدیته عصاره میوه، از دستگاه pH متر Elmteron مدل CP -501 استفاده گردید. برای تعیین pH عصاره میوه، ابتدا دستگاه با استفاده از محلول‌های بافر با pH ۴ و ۷ در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد کالیبره شد. سپس الکترود دستگاه داخل آب‌میوه قرار گرفت و پس از ثابت شدن عدد pH متر، pH عصاره قرائت و یادداشت گردید.

مواد جامد محلول: برای محاسبه مواد جامد محلول عصاره از دستگاه قندسنج مدل K-0032 استفاده شد. ابتدا با چند قطره آب مقطر و با استفاده از کلید کالیبره دستگاه، تنظیم گردید. پس از خشک‌کردن منشور دستگاه یک قطره عصاره تهیه شده را بر روی منشور گذاشته و کلید خواندن عدد دستگاه فشار داده شد تا عدد درجه بریکس به دست آید. برای اندازه‌گیری هر تکرار به دلیل نوسانات دمایی آزمایشگاه برای اینکه خطای کمتری ایجاد شود دستگاه کالیبره گردید.

کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئید: برای محاسبه محتوای کلروفیل از روش دره و همکاران (Dere *et al.*, 1998) استفاده گردید. مقدار ۰/۲ گرم پوست خیار از وسط هر میوه کاملاً جدا و در هاون چینی ریخته، سپس آن را کوبیده و کاملاً له شد، بعد از آن ۱۰میلی لیتر الکل متانول ۹۶ درصد به نمونه ساییده شده اضافه شد. مقداری هم زده و سپس مایع را در لوله فالکن ریخته، سپس فالکن‌های حاوی نمونه داخل دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفت. عصاره فوقانی حاصل از سانتریفیوژ جدا و قرائت شد. در طول موج‌های ۶۶۶ نانومتر برای کلروفیل a و ۶۵۳ نانومتر برای کلروفیل b توسط دستگاه اسپکتوفتومتر مدل ۲۱۰۰ مقدار جذب قرائت شد. در انتها با استفاده از فرمول‌های زیر میزان کلروفیل a، b و کارتنوئید و کلروفیل کل برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن نمونه‌تر به دست آمد.

Chorophyll a (CHLa) = 15.65 A666 – 7.340 A653
Chorophyll b (CHLb) = 27.05 A653 – 11.21 A666
Total Chorophyll (CHLt) = CHLa + CHLb
رابطه ۳

فنول کل: برای اندازه‌گیری فنول کل از روش سینگلتون و روسی (Singleton and Rossi, 1965) استفاده گردید. در ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره نمونه گیاهی را با ۱ میلی‌لیتر حلال متانول مخلوط نموده و محلول حاصل با همان حلال به نسبت ۱ به ۱۰۰ رقیق شد. در ادامه ۳۰۰ میکرولیتر از عصاره رقیق‌شده ۱/۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۷/۵ و ۱/۵ میلی‌لیتر فولین سیکالتو ۱۰ درصد اضافه شد. سپس نمونه‌ها را به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفت و سپس در طول‌موج ۷۶۵ نانومتر قرائت شد. نمودار استاندارد توسط گالیک اسید به غلظت‌های صفر، ۳، ۵، ۸، ۱۰و ۱۲، و ۱۲ میلی‌گرم در لیتر رسم شد.

$$Y = 0.0016\ X + 0.0036$$ رابطه ۴

فعالیت آنتی‌اکسیدانی: برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی از روش ری و همکاران (Re *et al.*, 1999) استفاده گردید. پس از تهیه عصاره‌های گیاهی جذب نمونه‌ها در دمای آزمایشگاه در طول موج ۵۱۷ نانومتربا اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. درصد مهار رادیکال آزاد DPPH نمونه‌ها با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد.

$$R = AD - AS/AD \times 100$$ رابطه ۵

R: درصد مهار

AD: جذب DPPH در ۵۱۷ نانومتر

AS: جذب نمونه‌ها در ۵۱۷ نانومتر

برای مقایسه فعالیت عصاره‌ها از پارامتر IC_{50} استفاده شد (IC_{50} غلظتی از عصاره است که ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد را مهار می‌کند).

تجزیه آماری داده‌ها: داده‌های حاصل از آزمایش با استفاده از نرم‌افزار آماری JMP-8 تجزیه و تحلیل گردید و میانگین تیمارها توسط آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد مورد مقایسه قرار گرفتند. همچنین نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel سری ۲۰۱۰ ترسیم گردیدند.

نتایج و بحث

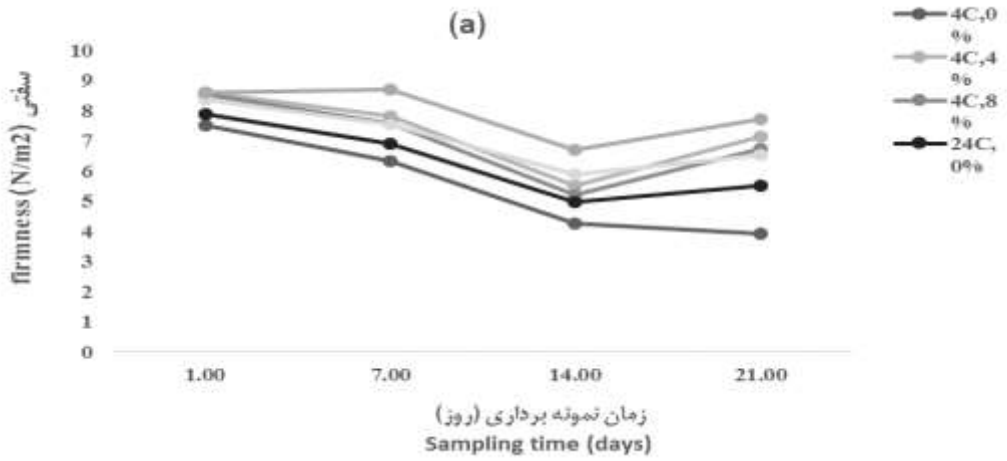
درصدکاهش وزن و سفتی بافت میوه: نتایج حاصل از تجزیه واریانس صفات در جدول ۲ آمده است. اثر ساده تیمار هیدروکولینگ و تیمار بره‌موم و برهمکنش آن‌ها بر درصد کاهش وزن میوه در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد. همچنین طبق نتایج حاصل از تجزیه واریانس سفتی بافت میوه (جدول ۲)، اثر ساده تیمار هیدروکولینگ، اثر ساده تیمار بره‌موم و همچنین برهمکنش تیمار هیدروکولینگ در تیمار بره‌موم در سطح احتمال ۵ درصد بر صفت سفتی بافت میوه معنی‌دار گردید. وزن میوه طی ۴ مرحله اندازه‌گیری به تدریج کم شد. به‌طوریکه در اولین مرحله اندازه‌گیری درصد کاهش وزن میوه در تیمار ۲۴ درجه بدون محلول‌پاشی با بره موم ۰/۳ درصد بود و در مرحله چهارم به ۵ درصد رسید (شکل ۱-الف). به این ترتیب با توجه به نتایج حاصل از مقایسه میانگین برهمکنش تیمار هیدروکولینگ و بره موم (شکل ۲) بیشترین درصد کاهش وزن میوه در تیمار بدون بره‌موم و هیدروکولینگ ۲۴ درجه با میانگین ۵/۰۲۵ ٪ مشاهده شد. این در حالی است که در همین تیمار دمایی (۲۴ درجه سلسیوس) با کاربرد غلظت‌های ۴ و ۸ درصد بره‌موم کاهش وزن کمتری مشاهده شد. در تیماره ۴ درجه سلسیوس بین سه سطح بره‌موم بکار رفته اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد. به این ترتیب اگرچه در دمای ۴ درجه سلسیوس تیمار بره‌موم تأثیر معنی‌دار بر درصد کاهش وزن میوه نداشت ولی در دمای ۲۴ درجه سلسیوس خیارهایی که با بره‌موم تیماردهی شده بودند کاهش وزن کمتری نشان دادند. در واقع تیمار بره‌موم سبب حفظ بهتر وزن میوه بخصوص در دماهای بالای انبارمانی (۲۴ درجه سلسیوس) شد.

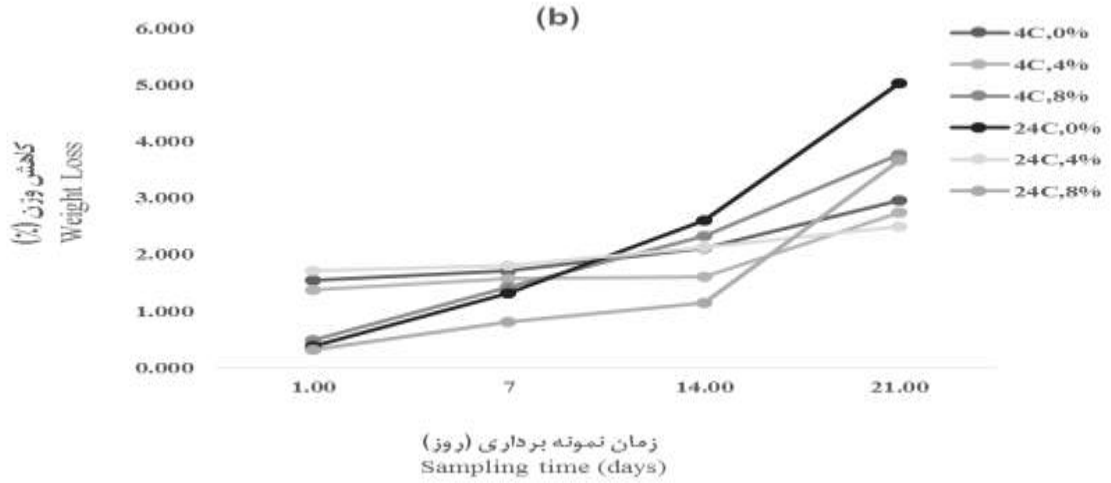
با توجه به نتایج شکل ۱-ب مقدار سفتی بافت طی دوره نگهداری در دمای ۱۰ درجه سلسیوس به تدریج کم شد. نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر برهمکنش تیمار هیدروکولینگ × تیمار بره‌موم در شکل ۳ نشان داده شده است. کمترین میزان سفتی بافت میوه با اختلاف معنی دار در تیمار بدون بره‌موم و در هیدروکولینگ ۴ درجه سلسیوس با میانگین ۳/۹۲۵ نیوتن بر مترمربع مشاهده شد. این در حالی است که محلول‌پاشی میوه‌ها با بره‌موم در دو غلظت ۴ و ۸ درصد منجر به افزایش سفتی بافت میوه نسبت به تیمار شاهد (عدم محلول‌پاشی با بره‌موم) در هر دو تیمار دمایی شد. به این ترتیب در دمای ۲۴ درجه سلسیوس با افزایش غلظت بره‌موم به ۴ و ۸ درصد سفتی بافت میوه به‌ترتیب ۱۸/۱۱ و ۴۰ درصد نسبت به عدم محلول‌پاشی با بره‌موم افزایش داشت. هرچند در این تیمار دمایی بین دو سطح ۴ و ۸ درصد اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد.

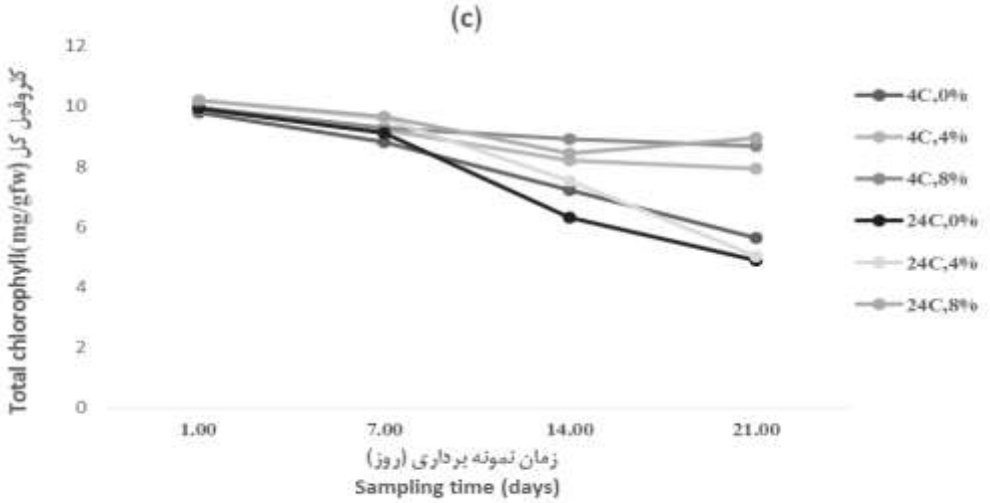
کاهش وزن یکی از مهم ترین مشکلات مربوط به انبارداری محصولات است. مهمترین دلیل کاهش وزن مربوط به تعرق (از دست رفتن آب از بافت‌های زنده) از سطح میوه و تنفس (از دست رفتن کربوهیدرات) در طی برداشت و انبارداری است (Kahramano, 2017). پوشش‌ها می‌توانند با محدود کردن تبادلات گازی باعث جلوگیری از کاهش وزن میوه شده و همچنین روی طعم میوه موثر باشند (Howard and Dewi, 1995). گزارش شده است ترکیبات آبگریز موجود در عصاره بره‌موم روی سطح میوه قادر به تشکیل یک مانع زیستی هستند که از خروج آب از سطح میوه جلوگیری می‌کند (Passos *et al.*, 2016; Xing *et al.*, 2011). گزارشات مشابه مبنی بر تاثیر بره‌موم بر جلوگیری از کاهش وزن در دوره پس از برداشت روی انار (Ali *et al.*, 2014)، انبه (Al-Qurashi and Awad, 2018)، پاپایا (Da Cunha *et al.*, Ali *et al.*, 2014; Passos *et al.*, 2016; 2018)، موز (Passos *et al.*, 2016)، دراگون فروت (میوه اژدها) (Zahid *et al.*, 2013)، پرتقال (El-Badawy *et al.*, 2012; Passos *et al.*, Badawy 2016; 2016) و خیار (Kahramano and Usanmaz, 2019) مشاهده شد. عصاره اتانولی بره‌موم در غلظت ۱درصد در حفظ وزن میوه انار در دمای ۶ درجه سانتی‌گراد انبار اثرگذار بود (Ali *et al.*, 2014). به طوریکه درصد کاهش وزن میوه انار طی ۱۵۰ روز انبارداری تحت اثر بره‌موم ۱۱ درصد و در شرایط عدم استفاده از بره‌موم ۲۰ درصد بود (Kahramno *et al.*, 2018). نتایج مشابه در خیار نیز نشان داد با کاربرد عصاره الکلی بره موم در غلظت ۰/۵ درصد ، درصد کاهش وزن میوه در خیارهای تحت تیمار ۱۵ درصد و در خیارهای شاهد ۲۶ درصد طی ۲۴ روز انبارداری بود (Kahramano and Usanmaz, 2019). در پرتقال رقم "Washington Navel" استفاده از غلظت‌های ۲ و ۳ درصد عصاره الکلی بره‌موم در جلوگیری از کاهش وزن میوه اثر گذاشت (El-adawy *et al.*, 2012; Badawy 2016; Passos *et al.*, 2016). البته این نکته قابل ذکر است که اتانول به‌عنوان اصلی ترین حلال مورد استفاده در تهیه عصاره بره‌موم، خود در انسداد روزنه‌ها، کاهش تعرق، کاهش تنفس و در نتیجه جلوگیری از کاهش وزن میوه موثر است (Ali et al., 2014). هرچند مطالعات نشان داده استفاده از الکل به تنهایی به‌دلیل فرار بودن اثر مثبتی بر حفظ کیفیت میوه و جلوگیری از کاهش وزن میوه نداشته است (Gabler et al., 2005). برخلاف نتایج مشاهده شده در این آزمایش، مطالعات روی سیب رقم "Eva" نشان داد هیچ یک از عصاره‌های آبی و الکلی بره‌موم بر افزایش عمر انبارداری سیب در دمای ۵ درجه سلسیوس انبار اثر نداشتند (Mariano-Nasser, 2020).

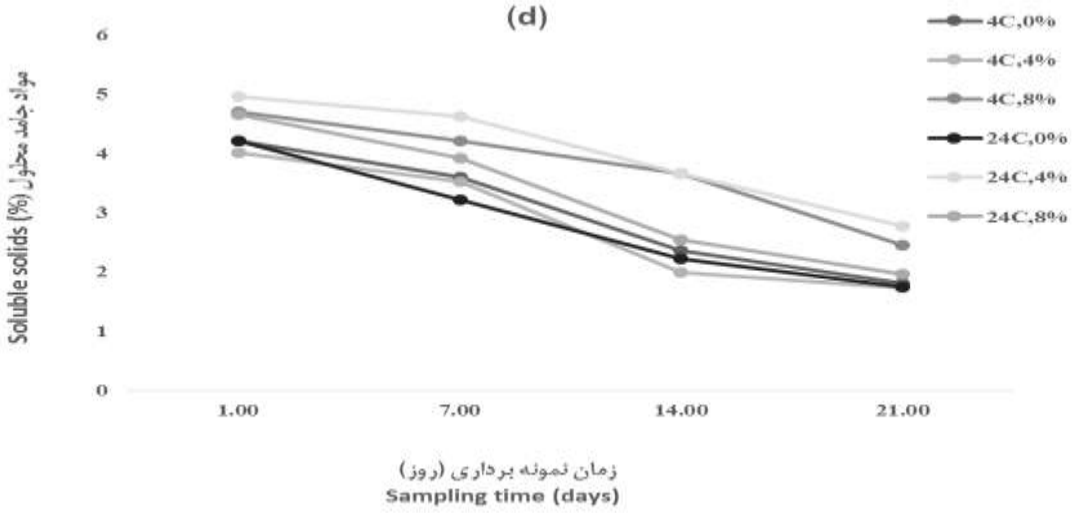
با توجه به نتایج شکل ۲ درصد کاهش وزن میوه در دمای ۲۴ درجه سلسیوس نسبت به ۴ درجه سلسیوس بیشتر بود. در واقع دمای بالا به دلیل تنفس بالا می‌تواند سبب کاهش سوبستراهایی مثل قندها و پروتئین‌ها شده و منجر به افت وزن میوه شوند (Jiang *et al.*, 2003). به نظر می‌رسد با افزایش سطح بره‌موم در دمای بالا (۲۴

درجه) میزان تنفس افزایش و تحلیل رطوبت کاهش پیدا کرد و فعالیت آنزیم‌ها کم شد و از تجزیه بافت میوه تا حدودی جلوگیری شد. به همین ترتیب در گوجه فرنگی گزارش شد نگهداری میوه‌ها در دمای بالا سبب تحلیل در واکس اپی‌کوتیکولی شده و در نتیجه رطوبت در میوه‌هایی که در دمای بالا نگهداری شده کاهش یافته و وزن آن کم می شود (Garcia *et al*., 1998). با توجه به تاثیر بره موم بر جلوگیری از کاهش وزن خیار گزارش شده است پوشش‌های خوراکی انتقال آب از میوه به اتمسفر را محدود و از پوست میوه محافظت می‌کند و مانع تبخیر آب‌میوه می‌شود (Delgando and Wensum, 2001). دو عامل پوشش و دمای مناسب بر حفظ مطلوب سفتی بافت میوه در انبار موثر است و بر فعالیت آنزیم‌های پلی گالاکتروناز و پکتین متیل استراز به عنوان دو عامل تعیین‌کننده میزان نرم شدن میوه و سبزیجات اثر دارد (Tedlen Park *et al*., 1994 ; and Bayindirli, 1998). کاهش انتشار گازهای تنفسی از طریق پوست میوه و تأخیر در متابولیسم میوه با کاهش شدت تنفس موجب حفظ و استحکام میوه‌ها و سبزی‌ها می‌باشد (Delgando and Wensun, 2001). به‌دلیل کاهش افت وزن و حفظ بهتر تورژسانس، پوشش‌ها می‌توانند باعث حفظ بهتر سفتی میوه در انبار گردند (Rao et al., 2011). اگزینگ (Xing *et al*., 2011) گزارش کرد پوشش خوراکی بر سفتی بافت فلفل دلمه‌ای و خیار اثر مثبت دارد. طباطبایی کلور و همکاران (Tabatabaekolor *et al*., 2016) گزارش کردند میوه‌های گوجه‌فرنگی نگهداری شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نسبت به میوه‌های نگهداری شده در دمای ۲۰ درجه سلسیوس از سفتی بافت مطلوب‌تری برخوردار بودند.









شکل ۱- روند تغییر سفتی (a)، کاهش وزن (b)، کلروفیل کل (c) و درصد مواد جامد محلول (d) میوه خیار رقم 'نگین' طی مدت زمان انبارمانی تحت تیمار غوطه‌وری در آب با دماهای ۴ و ۲۴ درجه سلسیوس و سطوح صفر، ۴ و ۸ درصد بره‌موم

Figure 1- The changing trend of firmness (a), weight loss (b), total chlorophyl (c) and TSS (d) of cucumber fruit cv. 'Negin' during four measurement stages treated with two temperatures and different levels of propolis. (LSD, $p \leq 0.05$)

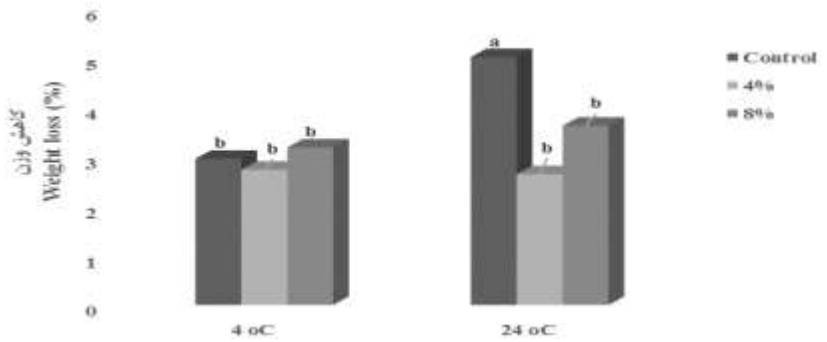
جدول ۲- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات ارزیابی‌شده میوه خیار رقم 'نگین' تحت تاثیر کاربرد هیدروکولینگ و بره موم

Table 2- The ANOVA (mean squares) for cucumber fruit cv. 'Negin' traits affected by hydrocoolingand propolis application

منابع تغییرات S.O. V	درجه آزادی df	فعالیت آنتی اکسیدانتی Antioxidant activity	فنول Phenol	کلروفیل کل Total Chlorophyll	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل a Chlorophyll a	مواد جامد محلول TSS	اسیدیته pH	سفتی Firmness	کاهش وزن Weight loss
هیدروکولینگ (A) hydrocooling	1	0.6865*	0.0091ns	7.417*	1.519*	2.222 *	1.520*	0.890*	2.576*	3.893*
بره موم (B) Propolis	2	0.047*	0.53*	25.257*	5.634*	7.645 *	0.010 ns	0.0455 ns	14.259*	3.283*
A×B	2	0.064*	0.00026ns	5.236*	2.082*	0.883 ns	1.390*	0.0089 ns	2.651*	2.478*
خطا Error	18	0.0092	0.24	0.605	0.295	0.305	0.042	0.025	0.290	0.289
ضریب تغییرات CV (%)		12.4	12.5	14.5	14.1	13.3	10.12	7.2	5.3	6.2

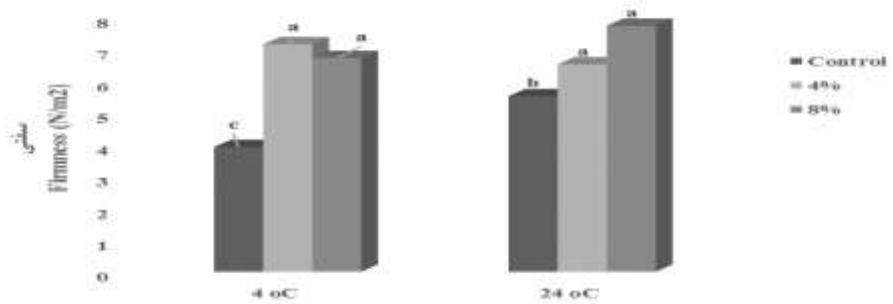
*،** و ns به ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال ۱ و۵ درصد و عدم اختلاف معنی‌دار

ns, *, **; indicate non-significant and significant at 5 and 1% of probability levels, respectively.



شکل ۲- اثر غلظت‌های متفاوت بره‌موم (۰، ۴، ۸ درصد) بر درصد کاهش وزن میوه خیار رقم 'نگین' تحت تاثیر دو تیمار دمایی (هیدروکولینگ)

Figure 2- The effect of different concentrations of propolis (0, 4, and 8 %) on the percentage of weight loss of cucumber fruit cv. 'Negin' under two temperature treatments (hydrocooling). (LSD, *p≤0.05*)



شکل ۳- اثر غلظت‌های مختلف بره‌موم (۰، ۴، ۸ درصد) بر میزان سفتی بافت میوه خیار رقم 'نگین' تحت دو تیمار دمایی هیدروکولینگ

Figure 3- The effect of propolis levels (0, 4, and 8 %) on firmness of cucumber fruits cv. 'Negin' under two hydrocooling treatments. (LSD, *p≤0.05*)

اسیدیته (pH) عصاره: نتایج حاصل از تجزیه واریانس صفات در جدول ۲ نشان داده شده است. اثر ساده تیمار هیدروکولینگ و بره‌موم بر میزان اسیدیته عصاره در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار گردید، ولی برهم‌کنش آن‌ها بر میزان اسیدیته عصاره اثر معنی‌دار نداشت. میزان اسیدیته در تیمار هیدروکولینگ ۲۴ درجه با میانگین ۵/۴۴ کمتر از میزان آن در تیمار هیدروکولینگ ۴ درجه با میانگین ۵/۸۲ بود (جدول ۳).

اسید مالیک فراوان‌ترین اسید موجود در میوه خیار می‌باشد. پیش‌ساز آن مالات است که به نظر می‌رسد در انبار در تنفس مصرف می‌شود و به اسید مالیک تبدیل نمی‌شود (Srilaong and Tatsumi, 2003). تغییرات pH در انبارمانی خیار متفاوت گزارش شده است به‌طوری‌که سریلانگ و همکاران (Srilaong and Tatsumi, 2003) گزارش کردند pH خیار در انبار افزایش یافته است. در pH پائین سیستم آنزیمی مسئول عطر و طعم میوه بی‌تأثیر می‌شود (Palma-Harris *et al.*, 2002). از طرفی با توجه به نتایج جدول ۴، pH شاهد بره‌موم (۵/۲۵) نسبت به دو تیمار بره‌موم کمتر می‌باشد. گارسیا (Garcia *et al.*, 1998) کاهش pH (افزایش اسیدیته)، در طول دوره نگهداری را نشانه بروز پیری در میوه عنوان نمودند. استفاده از پوشش باعث به تعویق افتادن افزایش اسیدیته شده و در نتیجه پیری خیار را به تاخیر انداخت.

جدول ۳- اثر ساده تیمار هیدروکولینگ بر pH و کلروفیل a میوه خیار رقم 'نگین'

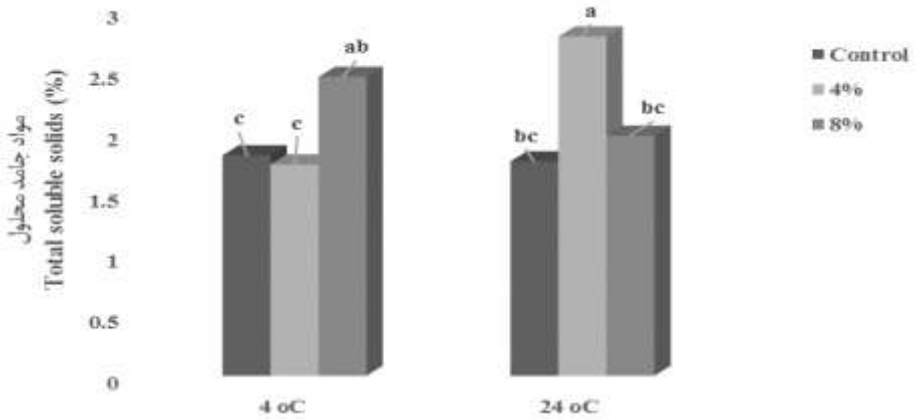
Table 3- Simple effect of hydro cooling treatment on pH and chlorophyll a of cucumber fruit cv. 'Negin'

تیمار Treatment	کلروفیل a Chlorophyll a (mg.g^{-1} fw)	اسیدیته pH
4 ^{0}C	4.42 a	5.82a
24 ^{0}C	3.61b	5.44b

حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از آزمون LSD است.

In each column the means with similar letters are not significantly different at the 5% level.

مواد جامد محلول کل (TSS): اثر ساده تیمار هیدروکولینگ و برهم‌کنش تیمار هیدروکولینگ و بره‌موم بر مواد جامد محلول کل در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). مطابق نتایج شکل ۱-د با نگهداری خیار طی دوره انبارداری در دمای ۱۰ درجه، به تدریج از مقدار مواد جامد محلول کم شد. در آخرین مرحله نمونه‌برداری بیشترین درصد مواد جامد محلول در بره‌موم ۴ درصد و در هیدروکولینگ ۲۴ درجه سلسیوس با میانگین ۲۷/۷ درصد حاصل گردید که اختلاف معنی‌داری با تیمار بره‌موم ۸ درصد در هیدروکولینگ ۴ درجه سلسیوس نداشت (شکل ۴). بنابراین به نظر می‌رسد برای حفظ مواد جامد محلول در دمای کمتر (۴ درجه سلسیوس نسبت به ۲۴ درجه سلسیوس) نیاز به غلظت‌های بالاتر بره‌موم می‌باشد. مواد جامد محلول و اسیدیته دو عامل مهم در تعیین طعم محصولات باغبانی هستند. در برخی مطالعات گزارش شده است بره‌موم بر مواد جامد محلول و اسیدیته میوه‌هایی مثل انبه، پاپایا و پرتقال اثر معنی‌دار نداشت (Mattiuz *et al.*, 2015; Da Cunha *et al.*, 2018; El-Badawy *et al.*, 2012). این در حالی است که مطالعه روی میوه‌هایی مثل انار (Kahramno *et al.*, 2018)، پاپایا (Ali *et al.*, 2014)، موز (Passos *et al.*, 2016)، میوه اژدها (Zahid *et al.*, 2013)، پرتقال (Passos *et al.*, Badawy, 2016; 2016) و انبه (Al-Qurashi and Awad, 2018) نشان از اثر معنی‌دار بره‌موم بر مواد جامد محلول و اسیدیته دارد. مکانیزم تاثیر بره‌موم بر حفظ مواد جامد محلول مشابه مکانیزمی است که بره‌موم در جلوگیری از کاهش وزن میوه دارد (Kahramno glu *et al.*, 2020). بره‌موم روی سطح میوه تشکیل یک لایه نیمه‌تراوا و زیست تجزیه‌پذیر داده و برخی از واکنش‌های بیوشیمیایی مثل تنفس را کاهش می‌دهد (Zahid *et al.*, 2013 Kahramno glu, 2017; Kittur *et al.*, 2001). تنفس میوه‌ها و سبزی‌ها سبب شکستن پلی‌ساکاریدها و تبدیل آن‌ها به قندهای ساده‌تر می‌شود. پوشش‌ها با کاهش فعالیت‌های متابولیکی سبب کاهش روند افزایش مواد جامد محلول می‌شود (Rabea *et al.*, 2003;Mostofi *et al.*, 2011;). مستوفی و همکاران (Mostofi *et al.*, 2011) گزارش کردند آب میوه‌های بدون پوشش، مواد جامد محلول کمتری دارند. طباطبایی فکور و همکاران (Tabatabaekolor *et al.*, 2016) گزارش کردند دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در حفظ مواد جامد محلول بهتر از دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد در میوه‌های گوجه‌فرنگی در انبار بود. نگهداری میوه‌های دارای پوشش در دمای پایین نسبت به میوه‌های بدون پوشش مواد جامد محلول خود را بیشتر حفظ کردند. طبق گزارش تادلن و بایندیرلی (Tadelen and Bayindirli, 1998) گوجه‌فرنگی نگهداری شده در دمای ۱۲ درجه سانتی‌گراد نسبت به گوجه‌فرنگی نگهداری شده در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد قند بیشتری در خود حفظ کرد.



شکل ۴- برهم‌کنش سطوح مختلف هیدروکولینگ × بره موم بر میزان قند محلول میوه خیار رقم 'نگین'

Figure 4- The interaction effect of different concentrations of propolis×hydrocooling levels on TSS amount of cucumber fruit cv. 'Negin' (LSD, *p≤0.05*).

کلروفیل a، b و کلروفیل کل: اثرات ساده تیمارهای هیدروکولینگ و بره موم بر میزان کلروفیل a و اثر متقابل این تیمارها بر کلروفیل b پوست خیار معنی‌دار شد. مقدار کلروفیل a در هیدروکولینگ ۴ درجه با میانگین ۴/۴۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر بیشتر از تیمار ۲۴ درجه با میانگین ۳/۶۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر بود (جدول ۳). اثر بره‌موم نیز بر محتوای کلروفیل a در پوست خیار اثر

معنی‌دار داشت. بیشترین میزان کلروفیل a در تیمار بره موم ۸ درصد با میانگین ۵/۲۱ میلی‌گرم بر گرم حاصل گردید (جدول ۴). طبق نتایج این جدول بین دو سطح ۰ و ۴ درصد بره‌موم بر محتوای کلروفیل a پوست خیار اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد. نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر برهمکنش تیمار هیدروکولینگ در تیمار بره‌موم بر کلروفیل b در شکل ۵ نشان داده‌شده است. طبق این نتایج، تیمارهای بره‌موم ۴ درصد + دمای ۴ درجه سلسیوس و بره‌موم ۸ درصد + دمای ۲۴ درجه سلسیوس بدون اختلاف معنی‌دار محتوای کلروفیل b بیشتری در پوست خیار داشتند. به این ترتیب در دمای درجه سلسیوس ۴ با افزایش غلظت بره‌موم از ۰ به ۴ و ۸ درصد محتوای کلروفیل b به ترتیب ۶۴ و ۵۳ درصد افزایش یافت.

با توجه به نتایج شکل ۱-ج طی دوره انبارداری مقدار کلروفیل کل به تدریج کم شد. به‌طوری‌که در تیمار ۲۴ درجه سانتی‌گراد + ۸ درصد بره‌موم از ۱۰/۲ به ۸/۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر رسید. نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر برهمکنش تیمار بره‌موم ×تیمار هیدروکولینگ بر میزان کلروفیل کل در شکل ۶ نشان داده شده است.

بیشترین میزان کلروفیل کل در تیمارهای بره‌موم ۸ درصد + تیمار دمای ۲۴ درجه سلسیوس (با میانگین ۸/۹۶ میلی‌گرم بر گرم)، تیمار ۸ درصد بره‌موم + دمای ۴ درجه سلسیوس (میانگین ۸/۶۸ میلی گرم بر گرم وزن تر) و تیمار ۴ درصد بره‌موم + دمای ۴ درجه سلسیوس (میانگین ۷/۹۳ میلی گرم بر گرم وزن تر) بدون اختلاف معنی‌دار با هم بود. بین تیمارهای بره‌موم ۴ و ۸ درصد در دمای ۲۴ درجه با تیمار بره‌موم صفر درصد در هیدروکولینگ ۴ درجه اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.

کلروفیل منبع رنگ سبز گیاهان، ترکیبی حساس است که می‌تواند در طی فرایند انبارداری تخریب و موجب از بین رفتن رنگ سبز سبزی‌ها و افت کیفیت آن‌ها شود (Nilsha *et al*., 2004). بنابراین طبق نتایج اعلام شده کلروفیل کل طی انبارداری در خیار کاهش یافت. رایان- استونهام و تونگ (Ryan-Stoneham and Tong, 2000) گزارش کردند که فاکتورهای زیادی مانند pH، دما، یون‌های فلزی، آنزیم‌ها و غیره روی تجزیه‌ی کلروفیل موثر هستند.

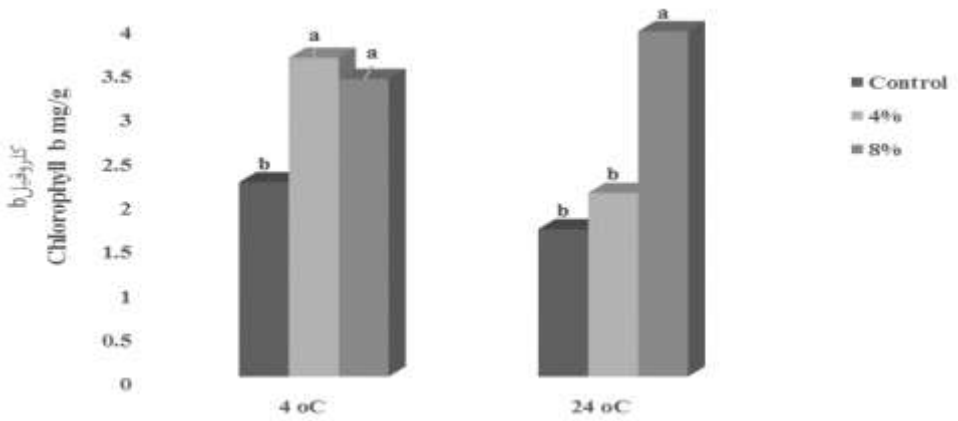
جدول ۴- اثر غلظت‌های مختلف بره موم بر میزان کلروفبل a و فنول میوه خیار رقم 'نگین'

Table 4- The effect of Propolis levels on chlorophyll a and phenol contents of cucumber fruit cv. 'Negin'

بره موم (٪) Propolis	فنول Phenol ($mg.100g^{-1}$)	کلروفیل a Chlorophyll a ($mg.g^{-1}$)	اسیدیته pH
0	0.583 a	3.32b	5.25b
4	0.450b	3.62b	6.10a
8	0.430b	5.21a	6.50a

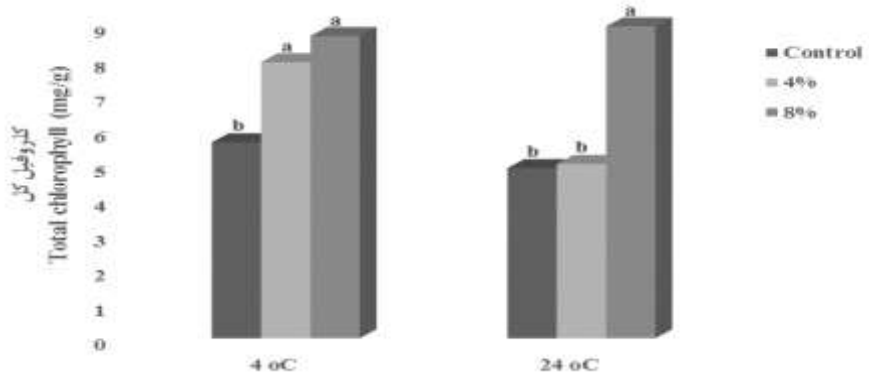
حروف مشابه نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد برابر آزمون LSD است.

In each column the means with similar letters are not significantly different at the 5% leveI



شکل ۵- برهم‌کنش سطوح مختلف هیدروکولینگ × بره موم بر میزان کلروفیل b میوه خیار رقم 'نگین'

Figure 5- The interaction of hydrocooling ×propolis levels on chlorophyll b content of cucumber fruit cv. 'Negin'. (LSD, *p≤0.05*)

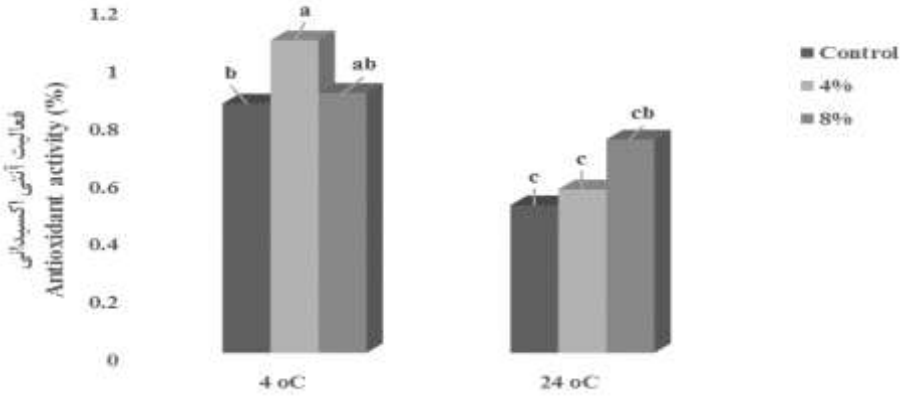


شکل ۶- برهم‌کنش سطوح مختلف هیدروکولینگ × بره موم بر میزان کلروفیل کل میوه خیار رقم 'نگین'

Figure 6- The interaction effect of hydrocooling × propolis levels on total chlorophyll content of cucumber fruit cv. 'Negin'. (LSD, $p \leq 0.05$)

تجزیه کلروفیل در دماهای پایین کاهش می‌یابد (Ryan-Stoneham and Tong, 2000). پوشش بره موم در غلظت ۸ درصد بیشترین تاثیر را در افزایش کلروفیل داشت و در حفظ رنگ میوه طی دوره انبارداری اثرگذار بود. در واقع پوشش‌ها، اتمسفر اطراف میوه را تغییر داده و سبب تأخیر در رسیدگی و پیری میوه شدند (Romanazzi *et al.*, 2003). گزارش‌هایی در ارتباط با اثر پوشش خوراکی بره‌موم بر ماندگاری میوه و سبزیجات بسیار محدود است ولی در سایر پوشش‌های خوراکی اگزینگ و همکاران (Xing *et al.*, 2011) گزارش کردند کیتوزان با ترکیب اسانس دارچین در فلفل شیرین سبب جلوگیری از کاهش محتوای کلروفیل شد. مطالعات قاسمی تولایی و همکاران (Qasemi *et al.*, 2015) نیز نشان داد تیمار ژل آلوئه ورا سبب افت کمتر کلروفیل نسبت به شاهد در خیار شد.

محتوای فنول و فعالیت آنتی‌اکسیدانی: اثر ساده تیمار بره‌موم بر مقدار فنول و همچنین اثرات ساده و متقابل دو تیمار مورد بررسی بر مقدار فعالیت آنتی‌اکسیدانی در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). بیشترین میزان فنول در تیمار شاهد (بدون بره‌موم) با میانگین ۰/۵۸۳ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم بود. در تیمار بره‌موم ۸ درصد با میانگین ۰/۴۳۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم و تیمار بره‌موم ۴٪ با میانگین ۰/۴۵۰ میلی گرم در ۱۰ گرم بدون اختلاف معنی‌دار مقدار فنول کمتری داشتند (جدول ۴). در دمای ۴ درجه سلسیوس محلول‌پاشی با بره موم ۴ و ۸ درصد منجر به افزایش آنتی‌اکسیدان شد. به‌طوری‌که، افزایش غلظت بره‌موم از ۰ به ۴ درصد، فعالیت آنتی‌اکسیدانی از ۰/۸۶ به ۱/۰۷ به طور معنی دار افزایش یافت. در دمای درجه سلسیوس ۲۴ نیز با افزایش غلظت بره موم از ۰ به ۴ درصد ، درصد فعالیت آنتی اکسیدانی از۰/۵۰ به ۰/۵۶ و با افزایش غلظت بره موم از ۴ به ۸ درصد از ۰/۵۶ به ۰/۷۳ افزایش داشت (شکل ۷). یکی از مهم‌ترین ترکیبات میوه‌ها و سبزی‌ها ترکیبات فنلی و آنتی‌اکسیدان میوه است (Akhtar *et al.*, 2010). اگرچه مطالعات در مورد تغییر در ترکیبات فنلی ناشی از کاربرد بره‌موم محدود است (Kahramano *et al.*, 2020)، اما نتایج روی انبه (Al-Qurashi and Awad, 2018; Mattiuz *et al.*, 2015) و میوه اژدها (Zahid *et al.*, 2013) نشان داد بره‌موم از تخریب ترکیبات فنلی در شرایط انبار جلوگیری می‌کند. از طرفی فعالیت آنتی‌اکسیدانی یک عامل مهم در گیاه است که به طور مستقیم رادیکال‌های آزاد را از بین می‌برد، از اکسیداسیون لیپیدها، پروتئین ها، تخریب DNA و سایر مولکول‌های گیاه جلوگیری می‌کند و به طور غیرمستقیم از تشکیل رادیکال‌های آزاد ممانعت به عمل می‌آورد (Kahramano glu *et al.*, 2020). بنابراین تغییرات فعالیت آنتی‌اکسیدانی طی انبارداری میوه ها بسیار مهم بوده و باید در بیشترین مقدار ممکن باشد (Kahramano glu *et al.*, 2020). در انار و انبه هیچ اثر معنی‌داری از بره موم بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی مشاهده نشده است (Ali Mirzoeva *et al.*, 1997; and Zahid, 2014). همچنین گزارش شده است پوشش‌ها سبب کاهش اکسیژن اطراف میوه شده و این کاهش تبادلات گازی سبب کاهش اکسیداسیون فنول‌ها می‌گردد (Akhtar *et al.*, 2010). در همین راستا تیمارهای خوراکی منجر به حفظ آنتی‌اکسیدان در گوجه‌فرنگی (Liu *et al.*, 2011) و فلفل دلمه‌ای (Xing *et al.*, 2011) شد. طبق مقالات منتشر شده تاکنون اثر مثبت بره‌موم بر انبارداری و حفظ کیفیت پس از برداشت محصولات کشاورزی به خاطر ترکیبات آبگریز موجود در آن و سطح بالای ترکیبات فنلی موجود در آن می‌باشد که یک سد زیست تجزیه‌پذیر روی سطح میوه فراهم نموده، از خروج آب جلوگیری کرده و تبادلات گازی را کاهش می‌دهد. در نتیجه تعرق و تنفس کاهش یافته و به دنبال آن ماندگاری پس از برداشت محصولات افزایش می‌یابد. با این حال اثرات بره‌موم بر ترکیبات بیوشیمیایی، فعالیت آنزیمی و واکنش‌های بیوشیمیایی احتمالی در محصولات ناشناخته بوده و نیاز به مطالعات گسترده‌تری دارد (Kahramno glu *et al.*, 2020).



شکل ۷- برهم‌کنش سطوح مختلف هیدروکولینگ × بره موم بر فعالیت آنتی‌اکسیدانتی میوه خیار رقم 'نگین'

Figure 7- The interaction effect of propolis × hydrocooling levels on antioxidant activity of cucumber fruit cv. 'Negin'. (LSD, *p≤0.05*)

نتیجه‌گیری

پوشش خوراکی بره‌موم در دو سطح ۴ و ۸ درصد بـر مانـدگاری پس از برداشت خیار اثر داشت. بره موم منجر به کاهش تولید فنول در میوه خیار شد و در حفظ فعالیت آنتی‌اکسیدانی خیار مـوثر بـود. دمـای پایین به دلیل کاهش تنفس و تأخیر در رسیدگی سبب حفـظ مطلـوب ماندگاری خیار در انبار گردید. در نتیجه با ترکیب پوشش بـره‌مـوم در غلظت ۴ درصد و دمای پایین انبار ماندگاری میوه‌ها در انبـار افـزایش پیدا کرد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از واحـد ویـژه خـدمات تخصصـی علـوم باغبـانی و مهندسی فضای سبز دانشگاه فردوسی مشهد بابـت تـامین بخشـی از هزینه‌های این پژوهش قدردانی می‌گردد.

منابع

1. Akhtar A., Abbasi N.A., and Hussain A. 2010. Effect of calcium chloride treatments on quality characteristics of loquat fruit during storage. Pakistan Journal of Botany 42: 181-188.
2. Ali A., Cheong C.K., and Zahid N. 2014. Composite effect of propolis and gum Arabic to control postharvest anthracnose and maintain quality of papaya during storage," International Journal of Agriculture and Biology 16: 1117-1122.
3. Ali A., Maqbool M., Ramachandran S. and Alderson P.G. 2010. Gum arabic as a novel edible coating for enhancing shelf life and improving postharvest quality of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit. Postharvest Biology and Technology 58:42-47.
4. Al-Qurashi A.D., and Awad M. A. 2018. Postharvest ethanolic extract of propolis treatment affects quality and biochemical changes of "hindi-besennara" mangos during shelf life. Scientia Horticulturae 233: 520-525.
5. Badawy I.F.M. 2016. Effect of ethanol-extracted propolis on fruit quality and storability of balady oranges during cold storage. Assiut Journal of Agricultural Sciences 47(4): 156-166.
6. Da Cunha M.C., Passos F.R., Mendes F.Q., and De Carvalho A.M.X. 2018. Propolis extract from different botanical sources in postharvest conservation of papaya. Acta Scientiarum Technology 40(1).
7. Delgando A.E., and Wensun D. 2001. Heat and mass transfer models for predicting freezing process. Journal of Food Engineering 47: 157-174.
8. Del-Valle V., Hern، ndez-Muoz P., Guarda A., and Galotto M.J. 2005. Development of a cactus-mucilage edible coating (*Opuntia ficus indica*) and its application to extend strawberry (*Fragaria ananassa*) shelf life: Food Chemistry 91: 751-756.
9. Dere S., Günes T., and Sivaci R. 1998. Spectrophotometric determination of chlorophyll - A, B and total carotenoid contents of some Algae species using different solvents. Turkish Journal of Botany 22: 13-17.
10. El-Badawy H.E.M., Baiea M.H.M., and El-Moneim E.A.A.A. 2012. Efficacy of propolis and wax coatings in improving fruit quality of "washington" navel orange under cold storage. Research Journal of Agriculture and

Biological Sciences 8(5): 420-428.
11. Fallik E. 2004. Prestorage hot water treatments (immersion, rinsing and brushing). Postharvest Biology and Technology 32: 125-134.
12. Gabler F.M., Smilanick J.L., Ghosoph J.M., and Margosan D.A. 2005. Impact of postharvest hot water or ethanol treatment of table grapes on gray mold incidence, quality, and ethanol content. Plant Disease 89(3): 309-316.
13. Garcia M.A, Martino M.N., and Zaritzky N.E. 1998. Plasticized starch-based coatings to improve strawberry quality and stability. Journal of Agricultural and Food Chemistry 46: 3758-3767.
14. Howard L.R., and Dewi T. 1995. Sensory, microbiological and chemical quality of miniaepeeled carrots as affected by edible coating treatment: Journal of Food Science 60: 142-144.
15. Jiang T., Feng L. and Li J. 2003. Changes in microbial and postharvest quality of shiitake mushroom (*Lentinus edodes*) treated with chitosan glucose complex coating under cold storage: Food Chemistry 131: 780-786.
16. Kahramano glu ˙I. 2017. Introductory chapter: postharvest physiology and technology of horticultural crops, in *Postharvest Handling*, P. Handling and ˙I. Kahramano glu, Eds., InTech Open, London, UK, pp. 1-5.
17. Kahramano glu I., and Usanmaz S. 2019. Improving postharvest storage quality of cucumber fruit by modified atmosphere packaging and biomaterials. Horticulture Science 54(11): 2005–2014.
18. Kahramano glu I., Aktas M., and ¨und¨uz S.G. 2018. Effects of fludioxonil, propolis and black seed oil application on the postharvest quality of "wonderful" pomegranate. PLoS One 13(5).
19. Kahramano glu I., Okatan V., and Wan Ch. 2020. Biochemical Composition of Propolis and Its Efficacy in Maintaining Postharvest Storability of Fresh Fruitsand Vegetables. Journal of Food Quality 9 pages.
20. Kittur F., Saroja N., Habibunnisa R.N., and Tharanathan R. 2001. Polysaccharide-based composite coating formulations for shelf-life extension of fresh banana and mango, European Food Research and Technology 213(4-5): 306-311.
21. Lin D., and Zhao Y. 2007. Innovations in the development and application of edible coatings for fresh and minimally processed fruits and vegetables. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety 6: 60-75.
22. Liu J., Tian S., Meng X., and Xu Y. 2011. Effects of chitosan on control of postharvest diseases and physiological responses of tomato fruit. Postharvest Biology and Technology 44: 300-306.
23. Mariano-Nasser F.A.D.C. 2020. Modified atmosphere using propolis in post-harvested "eva" organic apple," Emirates Journal of Food and Agriculture 32(3): 172-180.
24. Mattiuz B.H., Ducamp-Collin M.-N., and Mattiuz C.F.M. 2015. Effect of propolis on postharvest control of anthracnose and quality parameters of "kent" mango. Scientia Horticulturae 184: 160-168.
25. Meidani J., and Hashemi Dezfuli A. 1997. Postharvest Physiology. Agricultural Education Publication.
26. Mirzoeva O.K., Grishanin R.N., and Calder P.C. 1997. Antimicrobial action of propolis and some of its components: the effects on growth, membrane potential and motility of bacteria. Microbiological Research 152(3): 239-246.
27. Mobli M., and Pirasteh B. 1994. Vegetable production (translation), Isfahan University of Technology Publications.
28. Mostofi Y., Dehestani A.M., and Razavi S.H. 2011. The effect of chitosan on postharvest life extension and qualitative characteristics of table grape. Iranian Journal of Food Science and Technology 8(30):93-102.
29. Nilsha P., Singhal R.S., and Pandit A.B. 2004. A study on the degradation kinetics of visual green colourin spinach (*Spinacia oleracea* L.) and the effect of salt therein. Journal of Food Engineering 64: 135-142.
30. Palma-Harris C., McFeeters R.F., and Fleming H.P. 2002. Fresh cucumber flavor in refrigerated pickles: comparison of sensory and instrumental analysis: Journal of Agricultural and Food Chemistry 50: 4875-4877.
31. Park H.J., Chinnan M.S., and Shewfelt R.L. 1994. Edible coating effects on storage life and quality of tomatoes, Journal of Food Science 59(3): 568-570.
32. Passos F.R., Mendes F.Q., Cunha M.C.D., Pigozzi M.T., and Carvalho A.M.X.D. 2016. Propolis extract in postharvest conservation banana "prat" Revista Brasileira de Fruticultura, 38(2).
33. Passos F.R., Mendes F.Q., Da Cunha M.C., and De Carvalho A.M.X. 2016. Propolis extract coated in "Pera" orange fruits: an alternative to cold storage. African Journal of Agricultural Research 11(23): 2043-4049.
34. Passos F.R., Mendes F.Q., Pinto M.D.C.E., Araujo E.A., and Carvalho A.M.X.D.2016. Propolis extract in postharvest conservation solo papaya cv "golden" Semina Ciencias Agrarias 37(6): 4039-4050.
35. Popova M., Silici S., Kaftanoglu O., and Bankova V. 2005. Antibacterial activity of Turkish propolis and its qualitative and quantitative chemical composition. Phytomedicine 12(3): 221-228
36. Qasemi Toulai M., Ramin A. and Amini F. 2015. The effect of chitosan edible coating on quality and increase of postharvest life of "Zumrod" cultivar. Production and Processing of Agricultural and Horticultural Products 5(15): 197-189.
37. Rabea E.I., Badawy M.E.T., Stevens C.V., Smagghe G., and Steurbaut W. 2003. Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action: Bio Macro Molecules 4:1457-1465.
38. Rao T.V.R., Gol N.B., and Shah K.K. 2011. Effect of postharvest treatments and storage temperatures on the quality and shelf life of sweet pepper (*Capsicum annum* L.): Scientia Horticulturae 132: 18-26.

39. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A., and Yang M. 1999. Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Biology 26: 1231-1237.
40. Ribeiro C., Vicente A., Teixeira J.A., and Miranda C. 2007. Optimization of edible coating composition to retard strawberry fruit senescence: Postharvest Biology and Technology 44: 63-70.
41. Romanazzi G., Nigro F., and Ippolito A. 2003, Short hypobaric treatments potentiate the effect of chitosan in reducing storage decay of sweet cherries. Postharvest Biology and Technology 29:73-80.
42. Ryan-Stoneham, T. and Tong, C. H. 2000. Degradation kinetics of chlorophyll in peas as a function of pH. Journal of Food Science 65: 1296-1302.
43. Singleton V.L., and Rossi J.A. 1965. Colorimetric of total phenolic with phosphor molybdic-phospho tungstic acid reagents: American journal of Enology and Viticulture 16: 144-158.
44. Srilaong V., and Tatsumi Y. 2003. Oxygen action on respiratory processes in cucumber fruit *(Cucumis sativus*) stored at low temperature: The Journal of Horticultural Science and Biotechnology 78: 629-633.
45. Tabatabaekolor R., Ebrahimian A. and Hashemi S. J. 2016. Investigation on the effect of temperature, packaging material and modified atmosphere on the quality of tomato. Journal of Food Science and Technology 51(13): 1-13.
46. Tadelen Z., and Bayindirli L. 1998. Controlled atmosphere storage and edible coating effects on storage life and quality of tomatoes: Journal of Food Processing and Preservation 22: 303-320.
47. Tanada-Palmu P.C.S., and Grosso C.R.F. 2005. Effect of edible wheat gluten-based films and coatings on refrigerated strawberry (*Fragaria ananassa*) quality. Postharvest Biology and Technology 36: 199-208.
48. Terue B., Ieckbusch T., and Cortez L. 2004. Cooling parameters for fruits and vegetables of different size in a hydrocooling system. Scientia Agricola 61(6): 655-658.
49. Tzoumaki M.V., Biliaderis C.G., and Vasilakakis M. 2009, Effect of edible coatings and packaging on quality of white asparagus (*Asparagus officinalis*, L.) during cold storage: Food Chemistry 117: 55-63.
50. Xing Y., Li X., Xu Q., Yun J., Lu Y., and Tang Y. 2011. Effects of chitosan coating enriched with cinnamon oil on qualitative properties of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.): Food Chemistry 124: 1443-1450.
51. Zahid N., Ali A., Siddiqui Y., and Maqbool M. 2013. Efficacy of ethanolic extract of propolis in maintaining postharvest quality of dragon fruit during storage. Postharvest Biology and Technology 79: 69-72.

Journal of Horticultural Science
https:// jhs.um.ac.ir

Research Article
Vol. 36, No. 1, Spring 2022, p. 135-147

Effect of Drought Stress on Physiological and Phytochemical Traits of *Silybum marianum* L.

R. Ghanbari Moheb Seraj[1], M. Behnamian[2], A. Ahmadikhah[3*], V. Shariati[4], S. Dezhsetan[5]

Received: 17-03-2021
Revised: 06-07-2021
Accepted: 13-07-2021
Available Online: 20-06-2022

How to cite this article:
Ghanbari Moheb Seraj R., Behnamian M., Ahmadikhah A., Shariati V., and Dezhsetan S. 2022. Effect of Drought Stress on Physiological and Phytochemical Traits of *Silybum marianum* L.. Journal of Horticultural Science 36(1): 135-147. (In Persian with English abstract)
DOI: 10.22067/JHS.2021.68962.1022

Introduction

Plant growth and yield are affected often by stress conditions, especially drought, which is the most important factor in reducing crop production worldwide. *Silybum marianum* is an important pharmaceutical crop with great potential as a multipurpose plant for low-input cropping systems of the arid and semiarid regions.

Materials and Methods

In this experiment, the effect of drought stress (full irrigation at field capacity; no stress, irrigation at 70% of field capacity; mild stress and irrigation at 40% of field capacity; severe stress) on physiologic traits, the amount of silybin a and b and 1000 seed weight in milk thistle was studied in the research field of Shahid Beheshti University in 2017-2018. The experimental site is located in Shahid Beheshti University, Tehran, Iran (51.23°N, 35.48°E, and 1769 m above mean sea level). It has a moderate and mountainous climate with a mean annual rainfall of 145.2 mm and a mean temperature of 22ºC. This experiment was performed in a completely randomized block design with 3 replications. Milk thistle seeds were prepared from Isfahan Pakanbazr Company. The soil composition consisted of 1/3 clay, 1/3 sand, and 1/3 leaf composts. The field area was 150.0 m^2. Furrows were created to implement this study. The space of plants on rows was 0.5 m and between rows was 1 m. In general, 15 furrows were created and 15 plants were cultured on each furrow, so the total number of plants cultivated on the field was 225. Drought stress was applied at flowering stage. Soil moisture was measured by the weighing method. The soil samples were taken from various areas (randomly) of the field, three samples each day. After measuring the water content at F.C, based on that, the amount of 70%F.C and 40%F.C was also calculated. At the time of stress, F.C irrigation was performed every two days, 70% F.C irrigation every 4 days, and 40% F.C irrigation every 6 days. After 8 days, leaf sampling was performed to measure catalase, ascorbate peroxidase, proline and malondialdehyde content and seed sampling was performed to 1000 seed weight and extract analysis. For physiologic measurements, 3 plants were randomly assigned to each stack and their leaves were separated and transferred to the laboratory. Then, in the next step, their physiologic parameters (include Catalase and ascorbate peroxidase, proline and malondialdehyde content) were measured according to

1- Ph.D. of Biotechnology and Molecular Genetics, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agricultural Sciences, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
2- Associate Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
3- Assistant Professor, Department of Plant Sciences and Biotechnology, Faculty of Life Sciences and Biotechnology, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran
(*- Corresponding Author Email: a_ahmadikhah@sbu.ac.ir)
4- Assistant Professor, Department of Plant Molecular Biotechnology, National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology, Tehran, Iran
5- Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

the relevant protocol. In order to measure silybin, 4 plants were randomly considered to each stack and their seeds were harvested and combined and dried in shade condition in the laboratory for one month. The dried seed samples were completely powdered using a mill, then 10 g of the powders weighed and the oil extract of them was isolated by Soxhlet using n-hexane solvent. The extraction temperature was 70 °C and the extraction time was 6 h. After the extraction was completed, the extract was poured into dark glass. Next, the oil-free powder was dried in an incubator at 37 ° C. Methanol extract of oil-free powder was extracted using methanol solvent. For this purpose, 2 g of samples powder was weighed and 200 ml of 80% methanol was added to each of them and the mixture stirred for two days by Shaker. The mixture was then passed from a filter paper and after that, 200 ml of 80% methanol was added to the sample precipitate (on filter paper) and placed again on the shaker. After 24 h, extraction was performed by the same method and were added to the previous extract. The extracts were then concentrated in the environment temperature for two weeks. Concentrated extracts (powder) as well as standard silymarin with certain concentrations were dissolved in methanol solvent and used for injection into HPLC (Model: Infinity1260, Manufacturer: Agilent) using syringe filters with a diameter of 0.2 µm. After receiving the HPLC results, the data and peaks were analyzed and the amounts of silybin a and b were determined and compared at different levels of water stress. Statistical analysis of data was performed using R 3.6.1 and RStudio 1.1.463 software. Mean data were compared using Duncan's test with *agricolae* package at a significance level of 0.05.

Results and Discussion

The results showed that with increasing water stress intensity, the amount of silybin a and silybin b increased by 24% and 26%, respectively. The amount of these compounds in 40% were significantly higher than other treatments, so that its amount compared to F.C treatment (26.07 mg/g Grain DW in silybin a and 40.74 mg/g Grain DW in silybin b) and compared to the 70%F.C (25.32 mg/g Grain DW in silybin a and 34.64 mg/g Grain DW in silybin b) was higher. This indicates carbon assimilation from photosynthesis to produce secondary metabolites in this treatment. Also, the amount of silybin b compared to silybin a in all treatments was (0.8: 1.2), in which 1.2 is related to silybin b and 0.8 is related to silybin a. In severe stress treatment (40% of field capacity), the amount of silybin a and b (67.30 and 98.92 mg/g, respectively) increased significantly compared to other treatments. According to the mean comparison results, the highest activity of catalase (5.16 U/ml) and ascorbate peroxidase (2.26 U/ml) was observed in mild stress treatment. Proline content gradually increased with increasing stress intensity and reached its peak in severe stress (3.36 µM/gr). Lipid peroxidation also had their maximum in severe stress (8.35 nmol/grFW). The 1000 seeds weight was reduced by 6.8 g in severe stress treatment (40%F.C) compared to the control (F.C).

Conclusion

According to the results, the amount of milk thistle flavonoids can be increased for medicinal purposes including the treatment of liver disease and hepatitis by applying dehydration stress.

Keywords: Drought, HPLC, Methanol extract, Silymarin, Soxhlet

نشریه علوم باغبانی
https:// jhs.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۶، شماره ۱، بهار ۱۴۰۱، ص ۱۴۷-۱۳۵

اثرتنش آبی بر صفات فیزیولوژیک و فیتوشیمیایی گیاه دارویی خارمریم

(*Silybum marianum* L.)

راحله قنبری محب سراج[۱]- مهدی بهنامیان[۲]- اسدالله احمدی خواه[۳*]- وحید شریعتی[۴]- سارا دژستان[۵]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۲/۲۷
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۴/۲۲

چکیده

عوامل محیطی از یک طرف باعث تغییراتی در رشد گیاهان دارویی و از طرف دیگر موجب تغییر در مقدار و کیفیت مواد موثره آن‌ها می‌گردند. در این آزمایش اثر تنش آبی (بدون تنش: آبیاری کامل در حد ظرفیت زراعی، تنش ملایم: آبیاری در حد ۷۰ ٪ ظرفیت زراعی، و تنش شدید: آبیاری در حد ۴۰ ٪ ظرفیت زراعی) بر صفات فیزیولوژیک، میزان سیلی‌بین a و b و وزن هزار دانه در گیاه دارویی خارمریم در سال‌های ۱۳۹۷-۱۳۹۶ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه شهید بهشتی بررسی شد. این آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. تنش آبی در مرحله گلدهی و به روش وزنی اعمال شد. نتایج حاصل نشان داد با افزایش شدت تنش آبی، مقدار سیلی‌بین a و b به ترتیب به میزان ۲۴ و ۲۶ درصد افزایش پیدا کرده است که مقدار این ترکیبات در تیمار آبیاری ۴۰ ٪ ظرفیت زراعی بطور قابل‌توجهی بالاتر از سایر تیمارها بود، بطوریکه مقدار آن نسبت به تیمار ظرفیت زراعی (به ترتیب، ۲۶/۰۷ و ۴۰/۷۴ میلی‌گرم در گرم وزن خشک دانه برای سیلی بین a و سیلی بین b) و نسبت به تیمار ۷۰ ٪ ظرفیت زراعی (به ترتیب، ۲۵/۳۲ و ۳۴/۶۴ میلی‌گرم در گرم وزن خشک دانه برای سیلی بین a و سیلی بین b) بیشتر بود. این امر حاکی از اختصاص بیشتر کربن تثبیت شده حاصل از فتوسنتز جهت تولید متابولیت‌های ثانویه در این تیمار بود. همچنین مقدار سیلی‌بین b نسبت به سیلی‌بین a در تمامی تیمارها به نسبت ۱/۲ (سیلی‌بین b) : ۰/۸ (سیلی‌بین a) بود. در تیمار ۴۰ ٪ ظرفیت زراعی مقدار سیلی‌بین a و b (به ترتیب ۶۷/۳۰ و ۹۸/۹۲ میلی‌گرم در گرم وزن تر) بطور قابل‌توجهی نسبت به سایر تیمارها افزایش داشت. بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز (۵/۱۶ واحد آنزیمی/میلی لیتر) و آسکوربات پراکسیداز (۲/۲۶ واحد آنزیمی/میلی لیتر) در تیمار تنش ملایم مشاهده شد. محتوای پرولین با افزایش شدت تنش به تدریج افزایش یافته و میزان آن در تنش شدید به حداکثر خود رسید (۳/۳۶ میکرومول بر گرم وزن تر). پراکسیداسیون لیپید در تنش شدید (۴۰ ٪ ظرفیت زراعی) بیشترین مقدار خود را داشت (۸/۳۵ نانومول/گرم وزن تر). وزن هزار دانه بذر نیز در تیمار تنش شدید (تیمار ۴۰ ٪ ظرفیت زراعی) نسبت به کنترل (تیمار ظرفیت زراعی) به میزان ۶/۸ گرم کاهش پیدا کرد. با توجه به نتایج آزمایش به نظر می‌رسد که می‌توان با اعمال شیوه کم آبیاری، میزان فلاونوئیدهای گیاه خارمریم را به منظور اهداف دارویی از جمله درمان بیماری‌های کبدی و انواع هپاتیت افزایش داد.

واژه‌های کلیدی: خشکی، سوکسله، سیلی‌مارین، عصاره متانولی، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا

۱- دکترای بیوتکنولوژی و ژنتیک مولکولی، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی ، دانشگاه محقق اردبیلی
۲- دانشیار، گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی
۳- استادیار، گروه علوم و زیست فناوری گیاهی دانشکده علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی
(*- نویسنده مسئول: Email: a_ahmadikhah@sbu.ac.ir)
۴- استادیار ، گروه بیوتکنولوژی مولکولی گیاهی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و بیوتکنولوژی
۵- دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی

DOI: 10.22067/JHS.2021.68962.1022

مقدمه

گیاه دارویی خارمریم (ماریتیغال) (*Silybum marianum* L.)، متعلق به تیره کاسنی، گیاهی یکساله یا دوساله است که در مناطق مدیترانه‌ای و در جلگه‌های هموار با آب و هوای گرم و در خاک‌های سبک شنی می‌روید و در مناطق گوناگونی از ایران نیز رویش دارد. ارتفاع ساقه این گیاه ۱۵۰ تا ۲۵۰ سانتی‌متر بوده و برگ‌های آن پهن و به حالت نیزه و دارای رگه‌های سفید می‌باشد. گل‌های آن نیز دارای کاپیتول‌های درشت منفرد و شامل گلبرگ‌های لوله‌ای به رنگ ارغوانی است (Mafakheri *et al.*, 2011). میوه این گیاه فندقه به رنگ قهوه‌ای براق یا خاکستری است و معمولاً به‌عنوان داروی گیاهی استفاده می‌شود (Guo *et al.*, 2018). فندقه‌های معمول این گیاه حدود ۰/۲ تا ۰/۶ درصد ترکیب سیلی‌مارین دارد (Hessini *et al.*, 2009). سیلی‌مارین، فلاونوئید اصلی (۷۰ درصد) یافت شده در گیاه خارمریم است، در حالی که ۳۰-۲۰ درصد فلاونوئید باقیمانده عمدتاً متشکل از ترکیبات پلی‌فنلی است (Turtola *et al.*, 2003). کمپلکس سیلی‌مارین معمولاً شامل ۳۶/۳ درصد سیلی‌بین، ۱۵/۷ درصد سیلی‌کریستین، ۵/۹ درصد سیلی‌دیانین و ۵/۱ درصد ایزوسیلی‌بین است (Selmar and Kleinwächter, 2013). سیلی‌مارین به‌طور گسترده‌ای برای درمان بیماری‌های کبدی مورد استفاده قرار می‌گیرد و دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ضدچربی، آنتی‌پروکسیداتیو، ضدفیبروزی، ضدالتهابی، تنظیم سیستم ایمنی و بازسازی کبد است (Jaleel *et al.*, 2007). میوه گیاه دارای بیشترین مقدار سیلی‌مارین است، اما در برگ‌ها و بذرها نیز یافت می‌شود. سیلی‌بین، مهم‌ترین ماده زیستی و فعال سیلی‌مارین است (Rafiipour *et al.*, 2018) که برای درمان بیماری‌های کبدی و انواع هپاتیت مورد استفاده قرار می‌گیرد (Boutraa *et al.*, 2010). سیلی‌بین بخش عمده سیلی‌مارین یعنی حدود ۵۰ تا ۷۰ درصد آن را تشکیل می‌دهد (Vladimir and Daniela, 2005). سیلی‌بین دارای اثرات شبه استروژنی می‌باشد و ساختاری شبیه استروژن دارد که می‌تواند به گیرنده‌های استروژنی متصل شود و آن‌ها را فعال نماید (Kren and Walterova, 2005; Fatima et al., 2000).

عوامل محیطی از یک طرف باعث تغییراتی در رشد گیاهان دارویی و از طرف دیگر موجب تغییر در مقدار و کیفیت مواد موثره آن‌ها می‌گردند. عملکرد یک گیاه دارویی وقتی مقرون به‌صرفه است که مقدار متابولیت‌های اولیه و ثانویه آن به حد مطلوب رسیده باشد. بنابراین با مدیریت عوامل محیطی می‌توان به حداکثر محصول دست یافت (Kummer *et al.*, 2001). تنش‌های زیستی و غیرزیستی تاثیر قابل‌توجهی بر تولید متابولیت‌های ثانویه متعدد در گیاهان دارند (Jalal et al., 2012). تنش خشکی همچنین به‌عنوان عامل افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه در انواع گیاهان دارویی شناخته شده است (Carmen, 2007). درک پاسخ گیاه به خشکی، در تولید محصولات متحمل به تنش نقش اساسی دارد (Ram *et al.*, 2005; Yaghmaie *et al.*, 2010). هاموداو همکاران (Haji Aghaei *et al.*, 2018) نشان دادند که سطوح سیلی‌مارین و ترکیب‌های تشکیل دهنده آن به وسیله آب قابل دسترس متاثر شده است. هنداویو همکاران (Hasanloo *et al.*, 2007) در تحقیقات خود بیان کردند که با افزایش فواصل آبیاری، سیلی‌مارین کل و نیز اجزای تشکیل دهنده آن در گیاه خارمریم افزایش یافته است. افزایش در محتوای اسیدبتولینیک و ترکیبات فنلی تحت تنش کم آبی توسط آبرئو ومازافرا (Abreu and Mazzafera, 2005) در گل راعی[1] گزارش گردید. در برخی از گیاهان دارویی، تنش خشکی درصد تولیدات ثانویه را افزایش می‌دهد، زیرا در اثر تنش، به دلیل کاهش رشد، تثبیت کربن در طی فتوسنتز صرف تولید متابولیت‌های ثانویه شده وافزایش این مواد سبب جلوگیری از اکسیداسیون درون سلول‌ها می‌گردد (Salehi-Lisar and Bakhshayeshan-Agdam, 2016)، اما عملکرد متابولیت‌های ثانویه تحت تنش خشکی به دلیل کاهش بیوماس تولیدی کاهش می‌یابد (Hasanloo *et al.*, 2007). مقدار تجمع سیلی‌بین، ترکیب اصلی سیلی‌مارین در نمونه‌های جمع‌آوری شده از مناطق مختلف ایران بسیار بالاتر از نمونه‌های کاشته شده در محیط گلخانه بود (Hammouda *et al.*, 1993). در تحقیقی دیگر روی گیاه ماریتیغال مشخص گردید که شرایط خاک، دما، نور و اقلیم مزرعه اثر چشمگیری بر رشد و عملکرد و همچنین مقدار ماده موثره گیاه ماریتیغال دارند (Stewart and Bewley, 1980). میزان فلاونوئیدهای ماریتیغال به شرایط اقلیمی که گیاه در آن رشد می‌کند، به ژنتیک جمعیت‌ها و نوع بذر آن بستگی فراوان دارد (Belitz, 2007). در این راستا، هدف از تحقیق حاضر بررسی تاثیر سطوح مختلف تنش آبی بر برخی صفات فیزیولوژیک و همچنین محتوای سیلی‌بین a و b در گیاه دارویی خارمریم در شرایط مزرعه بود.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر تنش آبی بر صفات فیزیولوژیک، فیتوشیمیایی و همچنین وزن هزار دانه در گیاه دارویی خارمریم، آزمایشی در سال ۱۳۹۶-۱۳۹۷ در مزرعه دانشگاه شهید بهشتی انجام شد. این آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار (هر تکرار شامل ۱۰ گیاه) بود. بذور گیاه دارویی خارمریم از شرکت پاکان‌بذر اصفهان تهیه شد. مزرعه با مساحت حدود ۱۵۰ متر و با

1- *Hypericum brasiliense*

بستر خاک رس، ماسه و خاکبرگ تهیه و سپس تعداد ۱۵ جوی و پشته به فاصله یک متر در آن ایجاد شد. نمونه‌برداری خاک از قسمت‌های مختلف مزرعه (۹ تکرار) در عمق نیم متری (متوسط گسترش ریشه در این گیاه تا عمق نیم متر می‌باشد) انجام شد و خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک در آزمایشگاه خاک بررسی شد و میانگین آن در جدول ۱ ارائه شد. بذور خارمریم با فاصله ۵۰ سانتی‌متر (با تراکم دو بوته در متر مربع) در قسمت داغاب پشته‌ها در عمق ۳ سانتی‌متر کشت و به فاصله هر ۳ روز بطور کامل آبیاری شد. پس از رشد گیاهان و رسیدن به مرحله گلدهی (زمانی که گل‌های ۵۰ درصد بوته‌ها باز شدند)، تنش آبی روی آن‌ها اعمال گردید.

جدول ۱- برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک قبل از اجرای آزمایش

Table 1- The physical and chemical properties of the soil before the experiment

عمق Depth (m)	بافت خاک Soil texture	پتاسیم K ($mg.kg^{-1}$)	فسفر P ($mg.kg^{-1}$)	درصد کربن آلی Organic carbon (%)	درصد کربنات کلسیم $CaCo_3$ (%)	اسیدیته خاک Soil asidity	قابلیت هدایت الکتریکی EC (mho/cm)	درصد اشباع Saturation (%)
0-50	لومی رسی Clay loam	189	8.8	0.72	22	8.7	0.36	48.2

تعیین میزان آب خاک

در مرحله اول میزان آب خاک به روش وزنی تعیین شد بدین صورت که ابتدا کل زمین بطور کامل و اشباع آبیاری گردید، پس از رسیدن خاک به حد ظرفیت‌زراعی (مقدار رطوبت خاک پس از خارج شدن آب ثقلی، عدم چسبندگی)، هر روز به میزان یک کیلوگرم خاک در سه تکرار از نقاط مختلف زمین برداشته و وزن شد، سپس خاک‌ها در آون با دمای ۹۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت و در مرحله بعد وزن خشک آن‌ها نیز اندازه‌گیری و ثبت شد. زمانی که خاک در سطح ظرفیت زراعی بود میزان آب آن در سطح ۱۰۰ درصد در نظر گرفته شد و سپس نمونه‌برداری از خاک تا زمانی که میزان آب آن به ۴۰ ٪ ظرفیت زراعی رسید انجام شد. برای محاسبه میزان آب موجود در خاک ابتدا وزن تر خاک اندازه‌گیری شد سپس وزن خشک خاک نیز اندازه‌گیری و از وزن تر خاک کسر گردید. این عمل به مدت ۸ روز انجام شد. در روز دوم خاک به ۱۰۰ ٪ ظرفیت زراعی رسید، در روز چهارم به ۷۰ ٪ ظرفیت زراعی و در روز هشتم به ۴۰ ٪ ظرفیت زراعی رسید (Boutraa *et al.*, 2010).

روش اعمال تنش آبی

به منظور اعمال تنش آبی، نمونه‌های گیاهی مربوط به تیمار ۱۰۰ ٪ ظرفیت زراعی (F.C) به صورت یک روز درمیان و به میزان ۲۵۰ لیتر (میزان آب تا پر شدن کامل جوی) آبیاری شد و نمونه‌های مربوط به ۷۰ ٪ ظرفیت زراعی (۷۰ درصد F.C) به فاصله هر چهار روز و به میزان ۱۷۵ لیتر و نمونه‌های مربوط به ۴۰ ٪ ظرفیت زراعی (۴۰ درصد F.C) به فاصله هر هشت روز و به میزان ۱۰۰ لیتر آبیاری شد. پس از گذشت ۸ روز، نمونه‌برداری برگ جهت اندازه‌گیری آنزیم کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، محتوای پرولین و مالون دی‌آلدهید و نمونه‌برداری بذر جهت استخراج عصاره انجام گرفت (Ahmadpour Rafiipour *et al.*, 2018; *et al.*, 2018).

وزن هزار دانه

به منظور بررسی وزن هزار دانه، در هر پشته ۳ گیاه در نظر گرفته شد و بذور آن ها جمع آوری و در پاکت‌های کاغذی قرار گرفته و به آزمایشگاه منتقل شد. سپس وزن هزار دانه برای هر گیاه اندازه گیری و محاسبه شد.

اندازه‌گیری‌های فیزیولوژیک

جهت اندازه‌گیری‌های فیزیولوژیک، ۳ بوته گیاه بطور تصادفی روی هر پشته در نظر گرفته شد و برگ‌های آن‌ها جدا شده و به آزمایشگاه منتقل شدند. سپس در مرحله بعد پارامترهای فیزیولوژیک آن‌ها طبق پروتکل مربوطه اندازه‌گیری شد.

آنزیم کاتالاز

میزان فعالیت کاتالاز با استفاده از روش پیشنهادی برگمیر (Bergmeyer *et al.*, 1983) محاسبه شد. جذب مخلوط در طول موج ۲۴۰ نانومتر و به مدت ۳ دقیقه خوانده شد و فعالیت آنزیم با استفاده از معادله زیر تعیین شد.

$$A = \frac{\Delta A_{240} \times df \times 1000 \times 2}{\varepsilon t}$$

A: فعالیت ویژه آنزیم بر حسب میکرومولار H_2O_2 تجزیه شده در یک دقیقه و در یک میلی‌لیتر عصاره پروتئینی.ΔA240: تفاضل جذب ۲۴۰ نانومتر در شروع و پایان واکنش. df: فاکتور رقت (df=50). عدد ۱۰۰۰: تبدیل میلی‌مولار به میکرومولار. عدد ۲: واکنش در کووت ۲ میلی‌لیتری انجام شده است. t: مدت زمان واکنش آنزیم. ε: ضریب خاموشی پراکسید هیدروژن (۴۰ میلی‌مولار بر سانتی‌متر).

آنزیم آسکوربات پراکسیداز

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز به روش ناکانو و آسادا (Mozaffarian, 2013) اندازه‌گیری شد. به میزان ۱ میلی‌لیتر محلول حاوی بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷)، ۰/۵ میلی‌مولار آسکوربات، ۰/۵ میلی‌مولار H_2O_2 و ۱۰ میکرولیتر عصاره برگ تهیه شد. H_2O_2 در آخر برای شروع واکنش اضافه شد و کاهش جذب به مدت ۳ دقیقه در ۲۹۰ نانومتر ثبت شد. بلانک حاوی مخلوط واکنش بدون عصاره آنزیمی می‌باشد. جهت تعیین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در هر میلی‌لیتر عصاره آنزیم از رابطه زیر استفاده شد (Mozaffarian, 2013):

$$A = \frac{\Delta A_{290} \times 0.5 \times V_1 \times df}{\varepsilon \times l \times t \times V_s}$$

$$\Delta A_{290} = A_{Start} - A_{End}$$

V1: حجم مخلوط واکنش (۱ میلی‌لیتر). df: فاکتور رقیق کننده. t: مدت زمان واکنش. Vs: حجم نمونه (۱۰ میلی‌لیتر). ε: ضریب خاموشی برابر ۲/۸ میلی مولار بر سانتی متر. فعالیت ویژه آنزیم آسکوربیت پراکسیداز به صورت تعداد میکرومول H_2O_2 تجزیه شده در هر دقیقه در میلی‌گرم پروتئین گزارش شد.

محتوای پرولین

برای اندازه‌گیری محتوای پرولین از روش بیتس و همکاران (Bates et al., 1973) استفاده شد. جذب نوری محلول رویی واکنش از طریق دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر با استفاده از بلانک تولوئن خوانده شد و غلظت پرولین با استفاده از منحنی استاندارد تعیین و میزان آن براساس رابطه زیر در گرم وزن تر نمونه محاسبه گردید.

$$Proline\ (\mu mole/groffreshweight) = \frac{proline(\mu g/ml) \times toluene\ (ml)}{115.5\ \mu g\ /\mu mole} / \frac{gsample}{5}$$

مالون دی آلدهید

میزان پراکسیداسیون لیپیدی براساس روش استوارت و بولی (Stewart and Bewley, 1980) اندازه گیری شد. جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر ثبت گردید. میزان پراکسیداسیون لیپیدها با استفاده از اختلاف بین طول موج‌های جذبی و ضریب خاموشی ۱۵۵ میلی‌مولار بر سانتی‌متر بدست آمد.

استخراج عصاره و اندازه‌گیری سیلی‌بین

به‌منظور استخراج عصاره، بذر بوته‌های مذکور برداشت شد و در فویل‌ها بطور آزادانه قرار گرفته و سپس به مکان سایه منتقل و به مدت یک ماه خشک گردید. نمونه‌های بذری خشک شده با استفاده از دستگاه آسیاب بطور کامل پودر گردیده و در زیپ کیف (کیسه‌های نایلونی) قرار گرفت. در مرحله بعد، ۱۰ گرم از پودر حاصل با استفاده از دستگاه سوکسله روغن‌گیری شد. بدین‌منظور نمونه‌ها به میزان ۱۰ گرم وزن شده و عصاره روغنی آن‌ها با استفاده از حلال هگزان استخراج گردید. دمای مورد استفاده برای عصاره‌گیری ۷۰ درجه و مدت زمان عصاره‌گیری ۶ ساعت بود. پس از پایان کار شیر سوکسله بسته شد تا هگزان موجود در عصاره بخار شود. سپس پودر روغن‌گیری شده در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد خشک گردید (Haji Aghaei *et al.*, 2018). در مرحله بعد عصاره نمونه‌ها با استفاده از حلال متانول استخراج گردید. بدین ترتیب ۲ گرم از پودر فاقد روغن نمونه‌ها وزن شده و به هر یک از آن‌ها ۲۰۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد اضافه شد. سپس نمونه‌ها به مدت دو روز توسط شیکر هم زده شد و بعد نمونه‌ها با کاغذ صافی صاف شدند، به باقیمانده ۲۰۰ میلی‌لیتر دیگر متانول ۸۰ درصد اضافه شد و بر روی شیکر قرار گرفتند. پس از ۲۴ ساعت نمونه‌ها با همان شرایط قبلی عصاره‌گیری شدند و به عصاره اولیه اضافه شدند. سپس عصاره‌ها در هوای آزاد به مدت دو هفته تغلیظ شدند (Salehi-Lisar and Bakhshayeshan-Agdam, 2016). عصاره‌های تغلیظ شده (پودری) و همچنین سیلی‌مارین استاندارد با غلظت‌های معین در حلال متانول حل شده و جهت تزریق به دستگاه HPLC (مدل: Infinity1260، سازنده: Agilent با آشکارساز UV/VIS، دتکتور Diod Array، پمپ L-7100 Merck Hitachi و نرم افزار EZ chrome) با استفاده از فیلترهای سرنگی با قطر ۰/۲ میکرومتر استفاده شدند. برای انجام عملیات آنالیز، ۲۰ میکرولیتر از محلول سیلی بین و عصاره نمونه‌های گیاهی به دستگاه تزریق شدند. پس از دریافت نتایج HPLC، داده‌ها و پیک‌های موردنظر در پژوهشکده گیاهان دارویی شهید بهشتی آنالیز شد. پس از آنالیز داده‌ها، مقادیر سیلی‌بین a و b تعیین و در سطوح مختلف تنش آبی مقایسه گردید. آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار R 3.6.1 و RStudio 1.1.463 انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن با پکیج *agricolae* در سطح احتمال ۰/۰۵ انجام شد. برای رسم نمودارها و جداول از نرم افزارهای EXCEL 2013 و WORD 2013 استفاده شد.

نتایج

اندازه‌گیری پارامترهای فیزیولوژیک

نتایج تجزیه واریانس نشان داد بین تیمارهای مختلف آبیاری از لحاظ پارامترهای وزن هزار دانه، کاتالاز، پرولین، مالون دی‌آلدهید، سیلی‌بین a و b تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۱ وجود داشت ولی از لحاظ پارامتر آسکوربات پراکسیداز تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ وجود داشت (جدول ۲).

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس برخی از صفات اندازه‌گیری شده در گیاه دارویی خارمریم تحت تنش آبی

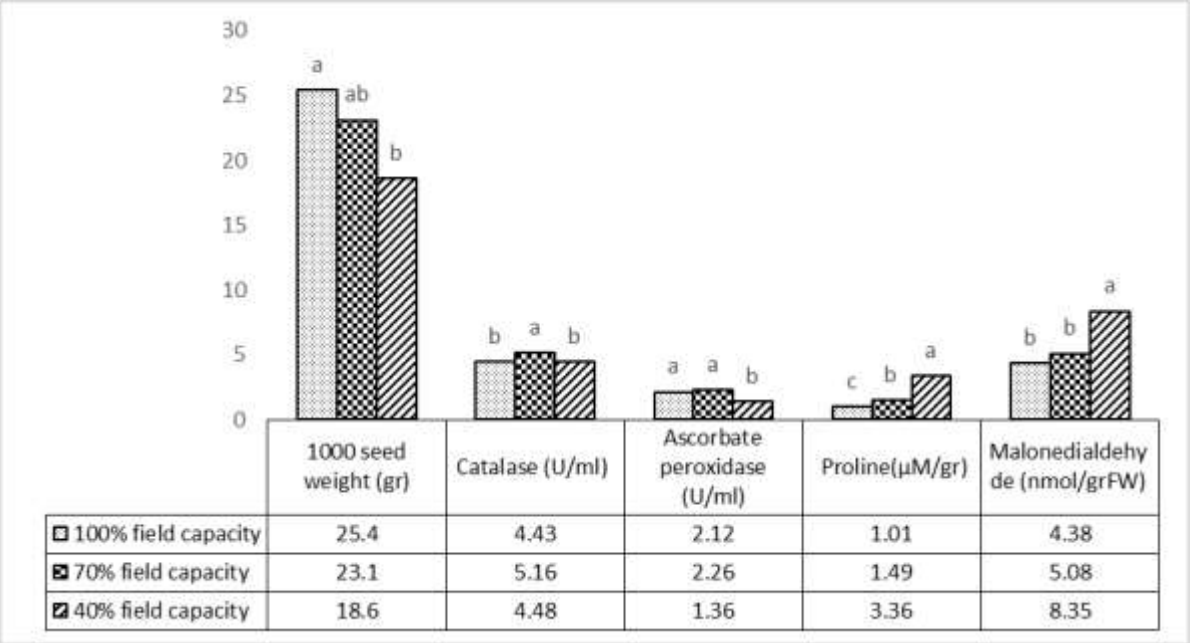
Table 2- ANOVA results or some measured traits in Milk thistle plant umder water stress

منابع تغییرات Sources of variations	درجه آزادی Degrees of freedom	وزن هزار دانه 1000 seed weight	کاتالاز Catalase	آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase	پرولین Proline	مالون دی آلدهید Malonedialdehyde	سیلی بین a Silybin a	سیلی بین b Silybin b
بلوک Block	2	3.28	0.280	0.151	6.6	0.0016	7.7	5.4
تیمار Treatment	2	9.920**	2.920**	0.707*	320.5**	0.743**	66.7**	144.4**
خطا Error	4	2.12	0.0012	0.0711	6.5	0.007	0.007	0.002
ضریب تغییرات C.V (%)		5.32	0.68	9.01	7.44	1.08	0.16	0.06

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

ns, ** and *: non-significant, significant at $p\leq0.01$ and $p\leq0.05$, respectively.

با توجه به نتایج مقایسه میانگین، بیشترین وزن هزار دانه بذر (۲۵/۴ گرم) در تیمار ظرفیت زراعی و کمترین آن (۱۸/۶ گرم) در تیمار ۴۰ ٪ ظرفیت زراعی مشاهده شد. بالاترین فعالیت آنزیم کاتالاز (۵/۱۶ واحد آنزیمی بر میلی لیتر) و آسکوربات پراکسیداز (۲/۲۶ واحد آنزیمی بر میلی‌لیتر) در تیمار تنش ملایم مشاهده شد. اما در تیمار تنش آبی شدید فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت کاهش یافت (شکل ۲). محتوای پرولین با افزایش شدت تنش به تدریج افزایش یافته و میزان آن در تنش شدید به اوج خود رسید (۳/۳۶ میکرومول بر گرم) (شکل ۲). همانند محتوای پرولین، پراکسیداسیون لیپید (مالون دی‌آلدهید) نیز در تنش شدید حداکثر میزان خود را داشت (شکل ۱) (۸/۳۵ نانومول بر گرم وزن تر).



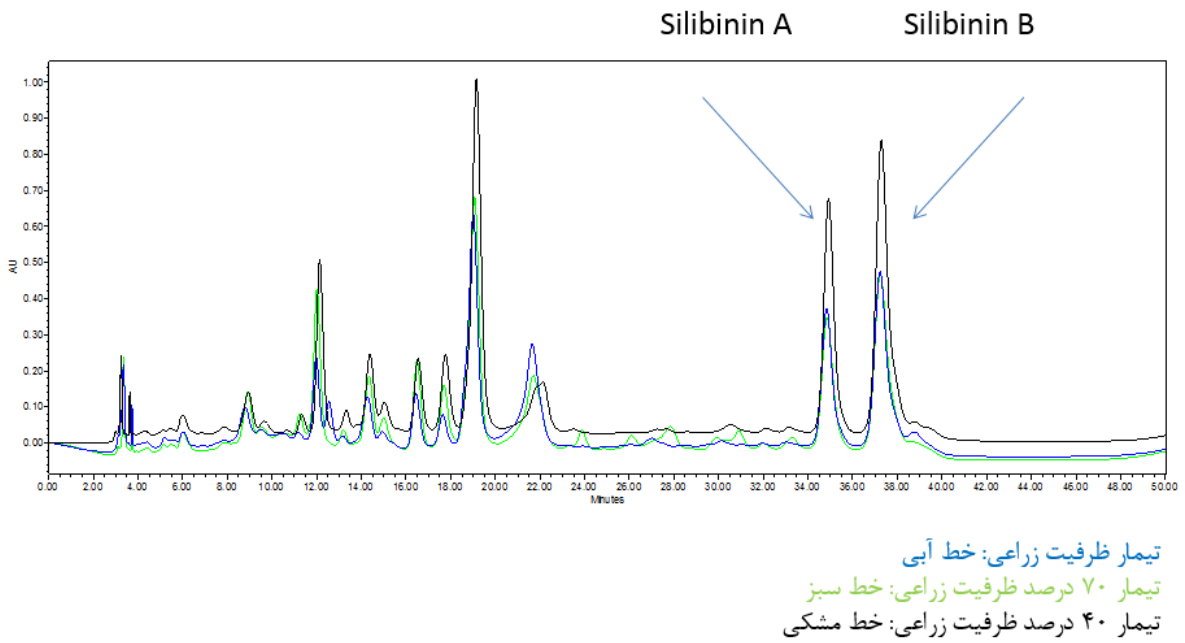
شکل ۱- تاثیر سطوح تنش آبی بر برخی صفات فیزیولوژیک و وزن هزار دانه در گیاه دارویی خارمریم

Figure 1- The effect of water stress levels on some physiological traits of Milk thistle (DMRT, $p\leq0.05$)

اندازه‌گیری سیلی‌بین

کروماتوگرام HPLC عصاره‌های متانولی بذر خارمریم

نتایج حاصل از تزریق عصاره متانولی به دستگاه HPLC بصورت کروماتوگرام دارای پیک‌های مختلف برای هر تیمار تنش آبی نمایش داده شد. روی هم‌گذاری کروماتوگرام سه تیمار تنشی مختلف حاکی از مقدار قابل‌توجه سیلی‌بین a و b در تیمار تنش شدید (آبیاری در حد ۴۰ ٪ ظرفیت‌زراعی) نسبت به سایر تیمارهای تنشی بود. با توجه به شکل ۲، تیمارهای بدون تنش (آبیاری در حد ظرفیت‌زراعی) و تنش ملایم (آبیاری در حد ۷۰ ٪ ظرفیت‌زراعی) تفاوت قابل‌توجهی از نظر مقدار سیلی‌بین a و b نداشتند.



شکل ۲- کروماتوگرام عصاره متانولی بذر خارمریم تحت تیمارهای مختلف تنش آبی

Figure 2- Chromatogram of methanolic extract of Milk thistle under different water stress levels

مقایسه مقادیر سیلی‌مارین در سطوح مختلف تنش آبی

به منظور تعیین کمیت سیلی‌بین a و b موجود در عصاره‌های گیاهی، مقادیر آن‌ها در معادلات رگرسیونی جایگزین و مقدار سیلی‌بین a و b برای آن‌ها محاسبه شد. مقادیر محاسبه شده برای تیمارهای مختلف تنش آبی در جدول ۳ نشان داده شده است. با توجه به نتایج جدول ۳، با افزایش شدت تنش آبی، میزان سیلی‌بین a و b در عصاره افزایش یافت. در تیمار تنش شدید (۴۰ ٪ ظرفیت‌زراعی) مقدار سیلی‌بین a و b (به ترتیب ۶۷/۳۰ و ۹۸/۹۲ میلی‌گرم در گرم) بطور قابل‌توجهی نسبت به سایر تیمارها افزایش داشت (Aliabadi-Farahani *et al.*, 2009).

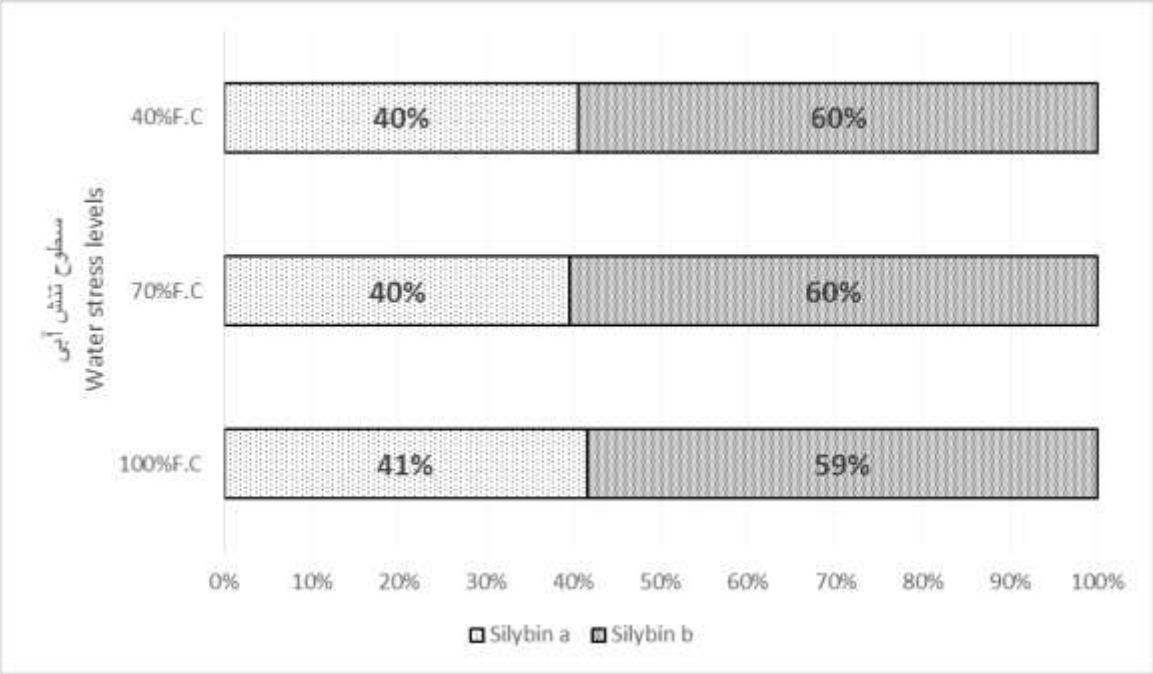
جدول ۳- مقادیر سیلی‌بین a و b محاسبه شده برای سطوح مختلف تنش آبی در گیاه خارمریم

Table 3- Silybin a and b values calculated for different levels of water stress in *S* Milk thistle

سطوح تیمار تنش آبی Water stress treatment levels	Silybin a(mg/g Grain DW[1])	Silybin b(mg/g Grain DW)
ظرفیت‌زراعی Field capacity	41.23[b]	58.18[c]
۷۰ ٪ ظرفیت‌زراعی 70% Field capacity	41.98[b]	64.28[b]
۴۰ ٪ ظرفیت‌زراعی 40% Field capacity	67.30[a]	98.92[a]

1- Dry weight

همانطور که در شکل ۳ نشان داده شده است در تمامی تیمارهای تنش آبی، سیلی‌بین b درصد بیشتری نسبت به سیلی‌بین a به خود اختصاص داده است. از مجموع سیلی‌بین عصاره، ۶۰ درصد متعلق به سیلی‌بین b و ۴۰ درصد به سیلی‌بین a تعلق دارد. سیلی‌بین بخش عمده کمپلکس سیلی‌مارین یعنی حدود ۵۰ تا ۷۰ درصد آن را تشکیل می‌دهد. سیلی‌بین ترکیبی از دو دیا–استرومر a و b می‌باشد که در شرایط طبیعی نسبت آن‌ها تقریبا ۱:۱ می‌باشد (Loguercio and Festi, 2011). نتایج بدست آمده حاکی از تفاوت اندک (۰/۸ :۱/۲) نسبت سیلی‌مارین a به b می‌باشد.



شکل ۳- مقادیر سیلی‌بین عصاره متانولی خارمریم در سطوح مختلف تنش آبی

Figure 3- Silybin levels of *S* Milk thistle methanolic extract at different levels of water stress

بحث

سیلی‌بین، مهم‌ترین ماده زیستی و فعال سیلی‌مارین است که بخش عمده آن یعنی حدود ۵۰ تا ۷۰ درصد آن را تشکیل می‌دهد (Bijak, 2017). در تحقیق حاضر تاثیر تنش آبی بر میزان سیلی‌بین a و b و همچنین برخی صفات فیزیولوژیک و وزن هزار دانه در گیاه دارویی خارمریم مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل حاکی از آن است که با افزایش شدت تنش آبی، گیاهان جهت مقابله با آن مکانیزم‌های متعددی از جمله تنظیم اسمزی و فعالیت آنزیمی بکار گرفتند. در آزمایش ما، در شرایط کم آبی شدید، پراکسیداسیون لیپیدی و از بین رفتن غشا به حداکثر خود رسیده است. مالون دی‌آلدهید محصولی از پراکسیداسیون اسیدهای چرب اشباع نشده در فسفولیپیدها است (Hessini *et al.*, 2009). استرس آب می‌تواند باعث پراکسیداسیون لیپیدها در غشاها از طریق تولید ROS[1] شود (Sairam *et al.*, 2000). در گیاه گرگ تیغ[2]، پرولین و MDA با افزایش شدت تنش افزایش یافته است (Guo *et al.*, 2018). مطالعات الساید و همکاران (ElSayed *et al.*, 2019) نشان داد ترکیب MDA با تنش کمبود آب افزایش یافت که این امر باعث سیالیت غشا به دلیل پراکسیداسیون لیپید تحت تنش خشکی می‌شود که در نتیجه باعث بهبود نفوذپذیری غشا می‌شود (Reddy *et al.*, 2004).

محتوای پرولین نیز به‌منظور تنظیم اسمزی با افزایش تنش آبی، افزایش پیدا کرده است. اسیدآمینه پرولین یکی از اسمولیت‌های اصلی در بیشتر گونه‌های گیاهی است که در شرایط تنش مختلف تجمع می‌یابد. در *Plectranthus tenuiflorus* با افزایش شدت تنش آب تا ۸۰ ٪ و ۶۰٪ ظرفیت زراعی، میزان پرولین در مقایسه با گیاهان شاهد (۱۰۰ ٪ ظرفیت زراعی) به طور معنی‌داری افزایش یافت (Jalal

1- Reactive oxygen species

2- *Lycium ruthenicum*

(*et al.*, 2012). نتایج السـاید و همکـاران (ElSayed *et al.*, 2019) نشان داد محتوای پرولین در برگ‌هـای گیـاه خـارمریم تحـت تـنش شدید خشکسالی در مقایسه با تنش ملایم به شـدت افـزایش یافـت. مطالعات متعدد گزارش کردند کـه تجمـع محتـوای پـرولین در ارقـام مقاوم به خشکی به طور قابل ملاحظه‌ای بیشتر از ارقـام حسـاس بـه خشـکی زیتـون (Ben Ahmed *et al.*, 2009) ، تـوت (Reddy *et al.*, 2004) و گندم (Nayyar *et al.*, 2003) بـود. تجمـع اسـمولیت پرولین تحت تنش خشکی، اجازه تنظیم اسمزی در سیتوزول و واکوئل با محیط خارجی را می‌دهد و در نتیجه از سلول‌هـای گیـاه محافظـت می‌کند (Zhang *et al.*, 2017; Gadallah, 1999).

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در شرایط کم آبی ملایم افزایش قابل‌توجهی نشان داده ولـی در شـرایط کم آبی شـدید فعالیـت آن‌هـا کـاهش یافتـه اسـت. کـاهش فعالیـت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت احتمالاً به دلیل تخریب و تجزیه آنزیم‌هـای مذکور به دلیل مواجه با کم‌آبی شدید باشد. بسیاری از آنتی اکسیدان‌ها نقش مهمی در جلوگیری از آسیب اکسیداتیو ناشی از شرایط نامطلوب دارند، که از جمله آنها کاتالاز و آسکوربات پراکسـیداز (APX) اسـت. کاتالاز با توانایی جاروب رادیکـال H_2O_2 از تجمـع ROS جلـوگیری می‌کند و بنابراین گیاه را در برابر پراکسیداسیون لیپیدی سیسـتم‌هـای غشایی و آسیب‌هـای اکسـیداتیو تحـت اسـترس خشـکی محافظـت می‌نماید (Mafakheri *et al.*, 2011). آنـزیم APX نیـز بـه عنـوان آنزیم کلیدی برای کاتـالیز واکـنش H_2O_2 بـه H_2O عمـل مـی‌کنـد (Correa-Aragunde *et al.*, 2013). تحقیقـات السـاید و همکـاران (ElSayed *et al.*, 2019) نشان داد فعالیت کاتالاز در خارمریم تحت تنش خشکی بطور قابـل تـوجهی افـزایش پیـدا کـرده اسـت. آن‌هـا همچنین گزارش کردند تحت تنش خشکی فعالیت آنـزیم آسـکوربات پروکسیداز نیز به دلیل مهار و مصرف H_2O_2 و سایر ROS های تولید شـده افـزایش یافـت. افـزایش محتـوای پـرولین، همـراه بـا فعالیـت آنزیم‌های آنتی اکسیدان CAT، SOD، APX و POD نیز در مطالعه السـاید و همکـاران (ElSayed *et al.*, 2019) تشـخیص داده شـد. تجمع پرولین در سلول‌های گیاهی می‌تواند باعث ایجاد سیسـتم‌هـای دفاع آنتی اکسـیدانی شـود (Ben Ahmed, Türkan *et al.*, 2005; 2009) و همچنین ساختار و فعالیت آنـزیم‌هـا را ثابـت نگـه مـی‌دارد (Chaves *et al.*, 2003). بنابراین ممکن است کـه محتـوای بـالای پرولین در برگ‌های ماریتیغـال تحـت کمبـود شـدید آب در طـولانی مدت، باعث فعالیت‌های بالای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نیز شود.

تحت شرایط کم آبی، مقدار سیلی‌بین a و b نیز افزایش پیدا کرده است و مقدار این ترکیبات در تیمار آبیاری ۴۰ ٪ ظرفیت‌زراعی بطـور قابل توجهی بالاتر از سایر تیمارها بود که این امر بیانگر تثبیت کـربن حاصل از فتوسنتز جهت تولید متابولیت‌هـای ثانویـه در شـرایط تـنش شـدید مـی‌باشـد (Turtola *et al.*, 2003) و بیشـتر متابولیـت‌هـای تولیدی در گیاهان در شرایط تنش به‌منظور جلوگیری از اکسیداسـیون سلولی است. همچنین مقدار سیلی‌بین b نسـبت بـه سـیلی‌بـین a در تمامی تیمارها به نسبت (۱/۲ : ۰/۸) بود.

تحقیقات نشان داده که یکی از مهـم‌تـرین عوامـل تاثیرگـذار در میزان متابولیت‌های ثانویه موجـود در گیاهـان، تـنش‌هـای محیطـی اعمال شده بر آن‌ها می‌باشد. در حقیقت یکی از با اهمیت‌ترین وظایف متابولیت‌های ثانویه در گیاهان نقش محافظتی آن‌ها در شرایط تـنش است. این ترکیبات به گیاهان کمـک مـی‌کننـد تـا بتواننـد در مقابـل شرایط نامساعد محیطی (مانند خشکی) مقاومت کنند و به حیات خـود ادامه دهند (Dehghani Bidgoli, 2018). کشاورز افشار و همکـاران (Keshavarz-Afshar *et al.*, 2015) گزارش کردند محتوای بیشـتر سیلیمارین در گیاهان تحت تنش ماریتیغال بیشتر مربوط به سـیلیبین، ایزوسیلیبین و سیلی کریستین انباشته شده در دانه‌ها نسبت داده شـده است و در شرایط خشکی محتـوای سـیلیدیانین کمتـر بـود. زاهیـر و همکاران (Zahir *et al.*, 2014) گزارش کردند تجمع محتوای فنل و فلاونوئید کل گیاهان خار مریم تحت تأثیر تنش خشکی قرار گرفـت. مستند شده است که تجمع متابولیت‌های ثانویه در گیاهان به شدت با شرایط رشد و تنش‌های محیطی ارتباط برقرار می‌کنـد (Falk *et al.*, 2007).

در گیاه ریحان و مریم گلی، تنش خشکی باعث افزایش محتـوای فنـل کـل و فلاونوئیـد کـل گردیـده اسـت (Ozkur *et al.*, 2009; Bettaieb *et al.*, 2011) که نتایج حاصـل بـا نتـایج تحقیـق حاضـر مطابقت داشت. همچنین محققین متعدد گزارش کرده‌اند که تنش آبی باعث افزایش اسانس در مرزه (Baher *et al.*, 2002)، آویشن دنـایی (Bahreininejad *et al.*, 2013)، آویشـن بـاغی (Eman *et al.*, 2008; Fabriki ourang and Davoudnia, 2018)، سنبل هنـدی (Fatima *et al.*, 2000) و پونه کوهی (Dunford and Vazquez, 2005) شده است. با توجه به نتـایج حاصـل از ایـن آزمـایش، تـنش خشکی منجر به فعال شدن مکانیسم دفـاعی گیـاه و بـه مـوازات آن افزایش متابولیت‌های ثانویه گیاه از جمله سـیلی‌بـین شـده اسـت کـه می‌تواند به دلیل نقـش محـافظتی آن‌هـا در شـرایط تـنش باشـد. در نهایت، تنش خشکی رشد گیاه و وزن هزار دانه را نیز تحت تاثیر قـرار می‌دهد. در آزمایش ما با افزایش شدت تـنش، وزن هـزار دانـه بطـور قابل توجهی کاهش پیدا کرده است. ابطحی و زینلـی (Abtahi and Zeynali, 2015) اثر سطوح مختلف تنش آبی، نیتروژن و تراکم بـذر بر عملکرد دانه گیاه ماریتیغال را مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاصـل از این تحقیق نشان داد که سطوح مختلف تـنش آبیـاری، نیتـروژن و تراکم، تأثیر بسیار معنی‌داری روی عملکرد دانه در متر مربع، عملکـرد دانه در هر بوته و شاخص برداشت دارد. حداکثر عملکرد دانه (۴۷۶/۷۵ گرم در متر مربع) مربوط به تنش ۵۰ میلی‌متر بود. بیشـترین عملکـرد دانه در هر بوته (۲۶/۳۵ گرم) در تنش آبیاری ۵۰ میلی‌متر حاصل شد.

حداقل میزان عملکرد دانه در متر مربع (۶۴/۴۷ گرم) در تنش آبیـاری آبیاری ۱۵۰ میلی‌متر به دست آمد. ۱۵۰ میلی‌متر، کمترین عملکرد دانه در هر بوته (۶/۴۲ گرم) در تـنش

منابع

1- Abreu IN., and Mazzafera P. 2005. Effect of water and temperature stress on the content of active constituents of *Hypericum brasiliense* Choisy. Plant Physiology and Biochemistry 43(3): 241-248. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2005.01.020.

2- Abtahi M., and Zeynali H. 2015. Effect of different levels of water stress, nitrogen and seed density on grain yield of Milk thistle (*Silybum marianum*). Journal of Plant Ecophysiology 7(21): 34-47.

3- Ahmadpour R., Armand N., Hosseinzadeh S., and Rigi G. 2018. The effect of compost fertilizer on some photosynthetic parameters in three growth stages of lentil (*Lens culinaris* Medik.) Under drought stress. Journal of Plant Research 31(4): 916-926.

4- Aliabadi-Farahani H., Valadabadi S.A., Daneshian J., and Khalvati M.A. 2009. Evaluation changing of essential oil of balm (*Melissa officinalis* L.) under water deficit stress conditions. Journal of Medicinal Plant Research 3: 329-333.

5- Baher Z.F., Mirza M., Ghorbanli M., and BagherRezaii M. 2002. The influence of water stress on plant height, herbal and essential oil yield and composition in *Satureja hortensis* L.. Flavour and Fragrance Journal 17(4): 275-277. https://doi.org/10.1002/ffj.1097.

6- Bahreininejad B., Razmjoo J., and Mirza M. 2013. Influence of water stress on morpho-physiological and phytochemical traits in *Thymus daenensis*. International Journal of Plant Production 7(1): 155-166.

7- Bates L., Waldren R.P., and Teare I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant Soil 39: 205-207. https://doi.org/10.1007/BF00018060.

8- Belitz A.R. 2007. Effects of environmental stress on growth, yield, and flavonolignan content in milk thistle (*Silybum marianum* L. Gaertn). A Thesis Presented for the Masters of Science Degree. The University of Tennessee, Knoxville, USA.

9- Ben Ahmed C.H., Ben Rouina B., Sensoy S., Boukhris M., and Ben Abdallah F. 2009. Changes in gas exchange, proline accumulation and antioxidative enzyme activities in three olive cultivars under contrasting water availability regimes. Environmental and Experimental Botany 67: 345–352. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2009.07.006.

10- Bergmeyer H.U., Grasse M., and Walterh E. 1983. In: H.U. Bergmeyer (ed.), Methods of enzymatic analysis, 3rd ed 2:164.

11- Bettaieb I., Hamrouni-Sellami I., Bourgou S., Limam F., and Marzouk B. 2011. Drought effects on polyphenol composition and antioxidant activities in aerial parts of *Salvia officinalis* L.. Acta Physiologiae Plantarum 33(4): 1103-1111. https://doi.org/10.1007/s11738-010-0638-z.

12- Bijak M. 2017. Flavonolignans Compounds not only for liver treatment. Pol Merkur Lekarski 42: 34–37.

13- Boutraa T., Akhkha A., Al-Shoaibi A., and Alhejeli A. 2010. Effect of water stress on growth and water use efficiency (WUE) of some wheat cultivars (*Triticum durum*) grown in Saudi Arabia. Journal Taibah University Science 3: 39-48. https://doi.org/10.1016/S1658-3655(12)60019-3.

14- Carmen T.M.D. 2007. Review of clinicaltrials evaluating safety and efficacy of milk thistle (*Silybum marianum* [L.] Gaertn). Integrative Cancer Therapies 6(2): 146-157.

15- Charles D.J., Simon J.E., Shock C.C., Feibert E.B.G., and Smith R.M. 1993. In: Effect of water stress and post-harvest handling on artemisinin content in the leaves of *Artemisia annua* L. (Eds.): J. Janick and J.E. Simon. Proceedings of the second national symposium: New crops, exploration, research and commercialization. John Wiley and Sons Inc, New York, 640-643.

16- Chaves M.M., Maroco J.P., and Pereira J.S. 2003. Understanding plant responses to drought from genes to the whole plant. Functional Plant Biology 30: 239–264. https://doi.org/10.1071/FP02076.

17- Correa-Aragunde N., Foresi N., Delladonne M., and Lamattina L. 2013. Auxin induces redox regulation of ascorbate peroxidase 1 activity by s-nitrosylation/denitrosylation balance resulting in changes of root growth pattern of Arabidopsis. Journal of Experimental Botany 64: 3339-3349. https://doi.org/10.1093/jxb/ert172.

18- Dehghani Bidgoli R. 2018. Impact of drought and salinity stresses on some secondary metabolites of rosemary. Journal of Applied Research in Plant Ecophysiology 5(1): 37-51. (In Persian)

19- Dunford N.T., and Vazquez R.S. 2005. Effect of water stress on plant growth and thymol and carvacol concentractions in Mexican oregano grown under controlled conditions. Journal of Applied Horticulture 7(1): 20-22.

20- ElSayed A.I., El-Hamahmy M., Rafudeen M.S., Mohamed A.H., and Omar A.A. 2019. The impact of drought

stress on antioxidant responses and accumulation of flavonolignans in Milk thistle (*Silybum marianum* (L.) Gaertn). Plants (Basel, Switzerland) 8(12): 611. https://doi.org/10.3390/plants8120611.

21- Eman E., Aziz S.T., Hendawi E., Din A., and Omer E.A. 2008. Effect of soil type and irrigation intervals on plant growth, essential oil yield and constituents of *Thymus vulgaris* plant. American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science 4(4): 443-450 .

22- Fabriki ourang S., and Davoudnia B. 2018. Evaluation of growth characteristics and secondary metabolites in *Thymus vulgaris* under moderate salinity and drought stress. Ecophito Chemistry of Medicinal Plants 6(2): 27-39. (In Persian)

23- Falk K.L., Tokuhisa J.G., and Gershenzon J. 2007. The effect of sulfur nutrition on plant glucosinolate content: physiology and molecular mechanisms. Plant Biology 9: 573–581. https://doi.org/10.1055/s-2007-965431.

24- Fatima S., Farooqi A.H.A., Sharma S., Kumar S., Kukreja A.K., Dwivedi S., and Singh A.K. 2000. Effect of drought stress and plant density on growth and essential oil metabolism in *Citronella java* cultivars. Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences 22(1): 563567.

25- Gadallah M. 1999. Effects of proline and glycinebetaine on Vicia faba responses to salt stress. Biologia Plantarum 42: 249–257. https://doi.org/10.1023/A:1002164719609.

26- Gebhardt R. 2002. Oxidative stress, plant-derived antioxidants and liver fibrosis. Planta Medica 65: 289-90. https://doi.org/10.1055/s-2002-26761.

27- Guo Y.Y., Yu H.Y., Yang M.M., Kong D.S., and Zhang Y.J. 2018. Effect of drought stress on lipid peroxidation, osmotic adjustment and antioxidant enzyme activity of leaves and roots of (*Lycium ruthenicum* Murr.) seedling. Russian Journal of Plant Physiology 65: 244–250. https://doi.org/10.1134/S1021443718020127.

28- Habán M., Otepka P., Kobida L., and Habánová M. 2009. Production and quality of milk thistle (*Silybum marianum* [L.] Gaertn.) cultivated in cultural conditions of warm agri-climatic macroregion, Horticultural Science (Prague) 36(2): 25–30.

29- Haji Aghaei R., Reza Zadeh Sh., Ghafarzadegan R., Mohammadnejad A., and Tavakoli M. 2018. On the effect of solvent consumption, input feed and the method of oiling in three standardized silymarines. Journal of Medicinal Plants 17(2): 167-176.

30- Hammouda F.M., Ismail S.I., Hassan N.M., Zaki A.K., and Kamel A. 1993. Evaluation of the silymarin content in *Silybum marianum* Gaertn. Cultivated under different agriculture conditions. Phytotherapy Research 7: 90-91.

31- Hasanloo T., KhavariNejad R., and Majidi Harvan A. 2007. Investigation of morphological traits and types of flavonolignans in cultivated milk thistle and native of Iran. Journal of Medical Plants 6(22): 77-90. (In Persian)

32- Hendawy S.F., Hussein M.S., Youssef A.A., and EL-Mergawi R.A. 2013. Respnse of *Silybum marianum* plant to irrigation intervals combined with fertilization, Nusant Ara Bioscience 5: 22-29. https://doi.org/10.13057/nusbiosci/n050104.

33- Hessini D.M., Delong JM., Gandour M., Albouchi A., Soltani A., and Abdelly C. 2009. Effect of water stress on growth, osmotic adjustment, cell wall elasticity and water use efficiency in *Spartina alterniflora*. Environmental and Experimental Botany 67: 312–319. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2009.06.010.

34- Indrák P., and Chytilová D. 1992. K problematice stanovení silybinu v droze ostropestřece mariánského. Zahradnictví 22: 309–313.

35- Jalal R.S., Moftah A.E., and Bafeel S.O. 2012. Effect of salicylic acid on soluble sugars, proline and protein patterns of shara (*Plectranthus tenuiflorus*) plants grown under water stress conditions. International Research Journal of Agricultural Science and Soil Science 2: 400-407.

36- Jaleel C.A., Manivannan P., and Sankar B. 2007. Water deficit stress mitigation by calcium chloride in *Catharanthus roseus*: Effects on oxidative stress, proline metabolism and indole alkaloid accumulation. Colloids Surf. B: Biointerfaces 60: 110-116.

37- Keshavarz-Afshar R., Chaichi M.R., Ansari-Jovini M., Jahanzad E., and Hashemi M. 2015. Accumulation of silymarin in milk thistle seeds under drought stress, Planta 242(3): 539-43. https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2007.06.006.

38- Kren V., and Walterova D. 2005. Silybin and silymarin-new effects and applications. Biomedical Papers 149: 29–41. https://doi.org/10.5507/bp.2005.002.

39- Kummer V., Maskova J., Canderle J., and Zraly Z. 2001. Estrogenic effects of silymarin in ovariectomized rats. VetMed-Czech 46: 17-23.

40- Kusano T., Berberich T., Tateda C., and Takahashi Y. 2008. Polyamines: essential factors for growth and survival. Planta 228: 367-381. https://doi.org/10.1007/s00425-008-0772-7.

41- Loguercio C., and Festi D. 2011. Silybin and the liver: From basic research to clinical practice. World Journal Gastroenterol 17(18): 2288–2301.

42- Mafakheri A., Siosemardeh A., Bahramnejad B., Struik PC., and Sohrabi Y. 2011. Effect of drought stress and subsequent recovery on protein, carbohydrate contents, catalase and peroxidase activities in three chickpea (*Cicer arietinum*) cultivars. Australian Journal of Crop Science 5(10): 1255-1260.

43- Mozaffarian V. 2013. Identification of medicinal and aromatic plants of Iran, Tehran: Farhang Moaser Publishers.
44- Nakano Y., and Asada K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant Cell Physiol 22: 867-880. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a076232.
45- Nayyar H. 2003. Accumulation of osmolytes and osmotic adjustment in water-stressed wheat (*Triticum aestivum*) and maize (*Zea mays*) as affected by calcium and its antagonists. Environmental and Experimental Botany 50: 253–264. https://doi.org/10.1016/S0098-8472(03)00038-8.
46- Ozkur O., Ozdemir F., Bor M., and Turkan I. 2009. Physiochemical and antioxidant responses of the perennial xerophyte Capparisovata to drought. Environmental and Experimental Botany 66(3): 487-492.
47- Rafiipour M., Gholami M., and Sarikhani H. 2018. The effect of low irrigation on some morphological and physiological characteristics of three strawberry cultivars. Journal of Plant Research 31(4): 806-817.
48- Ram G., Bhan M.K., Gupta K.K., Thaker B., Jamwal U., and Pal S. 2005. Variability pattern and correlation studies in *Silybum marianum* (L.) Gaertn, Fitoterapia 76: 143-147.
49- Reddy A.R., Chaitanya K.V., and Vivekanandan M. 2004. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plant. Journal of Plant Physiology 161: 1189-1202. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2004.01.013.
50- Reddy A.R., Chaitanya K., Jutur P., and Sumithra K. 2004. Differential antioxidative responses to water stress among five mulberry (*Morus alba* L.) cultivars. Environmental and Experimental Botany 52: 33–42. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2004.01.002.
51- Sairam R.K., Srivastava G.C., and Saxena D.C. 2000. Increased antioxidant activity under elevated temperatures: a mechanism of heat stress tolerance in wheat genotypes. Biologia Plantarum 43: 245–251. https://doi.org/10.1023/A:1002756311146.
52- Salehi-Lisar S.Y., and Bakhshayeshan-Agdam H. 2016. Drought stress in plants: causes, consequences, and tolerance. In: Hossain, M.A., Wani, S., Burritt, D.J., Tran, L.S.P. (Eds.). Drought Stress Tolerance in Plants 1: 1–16.
53- Selmar D., and Kleinwächter M. 2013. Influencing the product quality by deliberately applying drought stress during the cultivation of medicinal plants. Industrial Crops and Products 42: 558-566. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.06.020.
54- Šeršeň F., Vencel T., and Annus J. 2006. Silymarin and its components scavenge phenylglyoxylic ketyl radicals. Fitoterapia 77: 525–529. https://doi.org/10.1016/j.fitote.2006.06.005.
55- Stewart R.R., and Bewley J.D. 1980. Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes. Plant Physiology 65: 245–248. https://doi.org/10.1104/pp.65.2.245.
56- Tahernia M.S., Isfahani M., Baksh D., and Rabi B. 2013. The effect of planting date and plant density on phyllochron and active ingredient of Milk Thistle. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research 29 (4): 841-828.
57- Türkan I., Bor M., Özdemir 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.
58- Turtola S., Manninen A., Rikala R., and Kainulainen P. 2003. Drought stress alters the concentration of wood terpenoids in scots pine and norway spruce seedling. Journal of Chemical Ecology 29: 1981-1995. https://doi.org/10.1023/a:1025674116183.
59- Vladimir K., and Daniela W. 2005. Silybin and silymarin - new effects and application. Biomedical Papers 149(1): 29-41.
60- Yaghmaie P., Uryan Sh., Solati J., Mohammadi Kh., and Salari A. 2010. Investigation on Anxiolytic Effects of Silymarin Derived from Milk thistle in rat. Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences 15: 43-51. (In Persian)
61- Zahir A., Abbasi B.H., Adil M., Anjum S., Zia M., and Ul-Haq I. 2014. Synergistic effects of drought stress and photoperiods on phenology and secondary metabolism of *Silybum marianum*. Biotechnology and Applied Biochemistry 174: 693–707. https://doi.org/10.1007/s12010-014-1098-5.
62- Zhang W., Xie Z., Wang L., Li M., Lang D., and Zhang X. 2017. Silicon alleviates salt and drought stress of Glycyrrhiza uralensis seedling by altering antioxidant metabolism and osmotic adjustment. Journal of Plant Research 130:611–624. https://doi.org/10.1007/s10265-017-0927-3.
63- Zhao C.X., Guo L.Y., Jaleel C.A., Shao H.B., and Yang H.B. 2008. Prospects for dissecting plant-adaptive molecular mechanisms to improve wheat cultivars in drought environments. Comptes Rendus Biologies 331: 579–586. https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2005.040058.x.

Journal of Horticultural Science
https://jhs.um.ac.ir

Research Article
Vol. 36, No. 1, Spring 2022, p. 149-161

Evaluation of Diversity in some Phytochemical Characteristics and Antibacterial Effects of Extract of Iranian Cultivars of Chrysanthemum (*Dendranthema morifolium* Ramat.)

Sh. Taghipour[1], A. Ehtesham Nia*[2], H. Khodayari[3], H. Mumivand[4]

Received: 17-03-2021
Revised: 17-07-2021
Accepted: 08-08-2021
Available Online: 20-06-2022

How to cite this article:
Tagipour Sh., Ehtesham Nia A., Khodayari H., and Mumivand H. 2022. Evaluation of Diversity in some Phytochemical Characteristics and Antibacterial Effects of Extract of Iranian Cultivars of Chrysanthemum (*Dendranthema morifolium* Ramat.). Journal of Horticultural Science 36(1): 149-161. (In Persian with English abstract)
DOI: 10.22067/JHS.2021.68860.1019

Introduction

Due to their pleasant and soothing taste and odor, attractive colors, and medicinal purposes, *Chrysanthemum morifolium* flowers have been widely used as food, tea, ornamentation, and medicine. It has been reported that *C. morifolium* can reduce hyperactivity of the liver, improve eyesight and regulate cellular immunity. Pharmacological investigations have shown that Flo's chrysanthemum exhibits antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory, and heart-protective characteristics. Previous phytochemical studies on caffeic acid derivatives, flavonoids, triterpenoids, glycosides and alkaloids have been isolated from Flo's chrysanthemum. In this study, chrysanthemum cultivars were evaluated in terms of having secondary compounds and desirable medicinal properties, as well as antibacterial effects to introduce superior cultivars and purposeful planning for breeding research. The purpose of the present study, 25 cultivars of *C. morifolium* were compared in terms of essential oil content, leaves total phenolic, flavonoid and antioxidant activity.

Materials and Methods

In this experiment, 25 chrysanthemum cultivars were studied in terms of essential oil percentage, antioxidant index, total phenol and flavonoid content and antibacterial effects in a randomized complete block design in Lorestan University research farm in the year 2016. Essential oil was extracted from dried flowers in the shade using a Clevenger apparatus for 3 hours. Evaluation of antioxidant activity of the extract was measured by DPPH method based on the method of Kulisic et al. (2004). The amount of flavonoids was measured by aluminum chloride and total phenol by Folin - Ciocalteu reagent colorimetric. Ward analysis was done to classify the cultivars.

Results and Discussion

The results of analysis of variance showed that the studied chrysanthemum cultivars had significant differences in terms of all studied phytochemical traits. According to the obtained results, among different cultivars, the total amount of phenolic compounds is between 14.52-47.90 mg/g dry weight, the total flavonoid content is between 11.59-55.62 mg/g DW and IC_{50} index varied between 83.92 and 257.43 µg/ml. The highest amount of total phenol was present in Avadis and Dila cultivars (45.86-47.90 mg/g dry weight), while Yasamin cultivar (14.52 mg/g DW) had the lowest amount. Also, in terms of total flavonoid content, Golnar and Farahnaz cultivars had the highest total flavonoid content with 55.62 and 53.01 mg quercetin/g DW, respectively. Cluster

1, 2 and 4- Ph.D. Student, Associate Professor and Assistant Professor of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: Ehteshamnia.ab@lu.ac.ir)
3- Assistant Professor of Biology, Faculty of Basic Sciences, Lorestan University, Iran

analysis divided all studied cultivars into five groups. The percentage of essential oil among different cultivars varied between 0.41 to 0.62% and a high variability was observed in terms of the amount of essential oil in the studied cultivars. The highest percentage of essential oil was related to Farhnaz and Elmira2 cultivars. In general, the results showed high antioxidant activity of most cultivars. Therefore, chrysanthemum extract can be introduced as a suitable source of natural antioxidants. Also in this study, Paridokht, Sana and Ashraf cultivars were studied in terms of antioxidant and antibacterial index and Farahnaz and Elmira 2 cultivars appeared superior to other cultivars in terms of essential oil production. Hedaei *et al.* (2018) studied evaluation of some bioactive compounds and antioxidant activity of leaf methanolic extract and flower essential oil content from different cultivars of *Chrysanthemum morifolium*, in this review, total phenol and flavonoid contents and IC_{50} values in different cultivars were ranged from 17.63-33.20 mg/g DW, 12.62-53.17 mg quercetin/g, and 54-228 µg/ml respectively. The highest phenolic content was in cultivar "Poya3" (33.20 mg/g DW), whereas the cultivar "Sahand2" (17.63 mg/g DW) contained the lowest value. Also, in terms of total flavonoid content, cultivars "Marmar" and "Sahand 2" had the highest and the lowest flavonoids with 53.17 and 12.62 mg quercetin per gram, respectively.

Conclusion

The results of the present study indicate a significant difference between different cultivars in terms of the total amount of phenolic, flavonoid and antioxidant compounds that the existence of such diversity can be the role of cultivar and genetics in the production of these compounds. According to the results of this study, chrysanthemum cultivars with desirable levels of phenolic and flavonoid compounds can be used as a source of natural antioxidants as an alternative to synthetic antioxidants. In this study, Sana, Paridokht and Ashraf cultivars appeared superior to the existing genotypes in terms of phytochemical and antibacterial traits. The results of this study can be used to select the correct parents for purposeful crosses in subsequent chrysanthemum breeding programs in order to improve the phytochemical traits of existing cultivars.

Keywords: Antioxidant activity, Chrysanthemum, Essential oil, Flavonoids, Phenol

نشریه علوم باغبانی
https://jhs.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۶، شماره ۱، بهار ۱۴۰۱، ص ۱۶۱-۱۴۹

ارزیابی تنوع برخی از شاخص‌های فیتوشیمیایی و اثرات ضدباکتریایی در عصاره ارقام ایرانی گل داوودی (*Dendranthema morifolium* Ramat.)

شیرین تقی پور[۱]- عبداله احتشام‌نیا[۲]*- حامد خدایاری [۳]- حسن مومیوند[۴]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۲/۲۷
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۵/۱۷

چکیده

گل داوودی به دلیل حضور ترکیبات زیستی و آنتی‌اکسیدانی، فعالیت ضدباکتری، ضد التهاب و ضد ویروسی در ارقام مختلف به‌عنوان یکی از گیاهان دارویی در عرضه جهانی محسوب می‌گردد. در این آزمایش، ۲۵ رقم گل داوودی از نظر درصد اسانس، شاخص آنتی‌اکسیدانی، میزان فنول و فلاونوئید کل و اثرات ضدباکتریایی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه لرستان در سال ۱۳۹۵ مورد بررسی قرار گرفت. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که ارقام داوودی مورد مطالعه از نظر شاخص آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH، میزان فنول و فلاونوئید کل دارای تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بودند. بر اساس نتایج به‌دست آمده در میان ارقام مختلف میزان کل ترکیبات فنلی بین ۴۷/۹۰-۱۴/۵۲ میلی‌گرم گالیک‌اسید بر گرم وزن خشک، میزان فلاونوئید کل بین ۵۵/۶۲-۱۱/۹۱ میلی‌گرم کوئرستین در گرم وزن خشک و IC_{50} بین ۲۲۸-۵۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر متغیر بودند. بیش‌ترین میزان فنل کل در ارقام آوادیس و دیلا (۴۷/۹۰-۴۵/۸۶ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) و رقم یاسمین (۱۴/۵۲ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) کمترین مقدار را داشت. همچنین از نظر مقدار فلاونوئید کل، ارقام گلنار و فرحناز به‌ترتیب با ۵۵/۶۲ و ۵۳/۰۱ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم دارای بیش‌ترین میزان فلاونوئید کل بودند. تجزیه خوشه‌ای همه ارقام مورد مطالعه را به پنج گروه تقسیم‌بندی نمود. درصد اسانس در میان ارقام مختلف بین ۰/۴۱ تا ۰/۶۲ درصد متغیر بود و تنوع بالایی نیز از نظر میزان اسانس در ارقام مورد مطالعه مشاهده شد. همچنین در این مطالعه ارقام پریدخت، ثنا و اشرف از لحاظ شاخص آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی مورد بررسی و ارقام فرحناز و المیرا۲ از نظر میزان اسانس تولیدی برتر از سایر ارقام موجود ظاهر شدند. بنابراین می‌توان انتظار داشت تلاقی ارقام اشرف، ثنا و پریدخت با گروه پنجم بتواند ارقام موجود در این گروه را به لحاظ میزان ترکیبات زیستی، آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی ارتقا بخشد.

واژه‌های کلیدی: اسانس، داوودی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فلاونوئید، فنل

مقدمه

انواع متنوعی از متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی وجود دارد که منجر به ایجاد رنگ، طعم و بو در این گیاهان می‌شوند (*Zeng et al.*, 2014). اسانس‌ها ترکیبات شیمیایی معطری هستند که در گیاهان مختلفی وجود دارند. در ساختمان اسانس‌ها ترکیبات بسیار متنوعی مانند الکل‌های ترپنوئیدی، هیدروکربن‌ها، فنول‌ها، آلدئیدها، استرها و کتون‌ها به‌طور طبیعی وجود دارند و از نظر ترکیبات شیمیایی همگن نیستند (Marotti *et al.*, 1993). گل داوودی (*Dendranthema morifolium*) به دلیل طعم و بوی مطبوع و آرامش بخش، رنگ‌های جذاب، و اهداف دارویی به‌طور گسترده‌ای به‌عنوان غذا، چای، تزئینات و دارو استفاده می‌شود (*Guzelmeric et al.*, 2015 و Wang *et al.*, 2020). این گیاه متعلق به تیره Asteraceae، و یکی از مهم‌ترین گیاهان زینتی و دارویی در عرصه جهانی به شمار می‌رود (Da silva, 2003). گزارش شده است که *C. morifolium* می‌تواند باعث کاهش بیش فعالی کبد (Cui *et al.*,

۱، ۲ و ۴- به‌ترتیب دانشجوی دکتری فیزیولوژی تولید و پس از برداشت گیاهان باغبانی، دانشیار و استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: Ehteshamnia.ab@lu.ac.ir)
۳- استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران
DOI:10.22067/JHS.2021.68860.1019

2014)، تنظیم ایمنی سلولی و بهبود بینایی شود (Wang *et al.*, 2020). اسانس گیاه داوودی از گل و برگ‌های آن به‌دست می‌آید و به‌عنوان طعم‌دهنده و چاشنی در صنعت و در تهیه نوشیدنی‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. این گیاهان به دلیل وجود ترکیبات معطر در اسانس آنها معمولا بسیار خوشبو هستند (Marotti *et al.*, 1993). نوع و میزان ترکیبات شیمیایی اسانس گل داوودی بر حسب رقم و منشا آن کاملا متغییر است. همچنین وجود ترپن‌ها و سزکوئی‌ترپن‌های معطر مانند β-Pinene، Camphor، Borneol، Eucalyptol و Bornyl acetate در اسانس گل‌های این گیاه گزارش شده است (Sun *et al.*, 2015).

مطالعات فعلی نشان داده است که فنلیک‌ها از جمله اسیدهای فنلیک و فلاونوئیدها از مواد فعال ضروری گل‌های داوودی هستند و اسیدهای فنلی اصلی از خانواده Caffeoylquinic acids (CQAs) است در حالی که فلاونوئیدها عمدتاً دارای مشتقات لوتئولین، آپیژنین، دیوسمین و کوئرستین هستند (Ma *et al.*, 2020). اخیراً ثابت شده است که این فنولیک‌ها توانایی درمان یا تسکین سرطان، دیابت و سکته مغزی را دارند و گل‌های داوودی را به مکمل‌های جذاب برای تولید غذاها و نوشیدنی‌های کاربردی تبدیل می‌کند (Ma *et al.*, 2020). خواص زیستی فراوانی مانند خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد التهاب، ضدباکتری و ضد ویروس ایدز (HIV) برای گل داوودی شناسایی شده است (Wang *et al.*, 2008). فلاونوئیدها در اندام‌های مختلف گیاهی یافت می‌شوند و به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی، نقش مهمی در پاکسازی رادیکال‌های آزاد و حفاظت سیستم‌های زیستی در برابر تنش‌های اکسیداتیو برخوردار هستند. امروزه ارقام بسیار متنوعی از گل داووی در کشورهای مختلف و از طریق روش‌های مختلف به‌نژادی به‌خصوص دورگه‌گیری به‌دست آمده‌اند. آگاهی از تنوع ژنتیکی اولین گام در اصلاح گیاهان می‌باشد، بنابراین پتانسیل ارقام مورد نظر از جهات مختلف باید بررسی شود و سپس انتخاب صورت گیرد. از طرف دیگر، وجود تنوع ژنتیکی جهت انتخاب والدین در برنامه‌های اصلاحی دارای اهمیت زیادی می‌باشد (Teixira, 2004). گزارش‌های موجود به حضور ترکیبات زیستی و آنتی اکسیدانی متفاوت در ارقام مختلف گل داووی اشاره دارد. در مطالعه‌ای، فعالیت بالای آنتی‌اکسیدانی و وجود ترکیبات مختلف فلاونوئید در عصاره متانولی برگ و گل‌های داوودی گزارش شده است که از آسیب‌های مغزی مرتبط با کم‌خونی در موش جلوگیری می‌کند (Lin *et al.*, 2010). در مطالعه‌ای دهو و همکاران (Duh *et al.*, 2010) با بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره چهار رقم گل داوودی، فعالت قوی آنتی‌اکسیدانی هر چهار رقم را در مدل سیستم‌های اسید لینولئیک و لیپوزوم تایید کرده و رقم 'Harng Jyur' دارای بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را معرفی نمودند.

در مطالعه‌ای برخی ترکیبات زیست فعال و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی برگ و میزان اسانس گل داوودی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصله نشان از فعالیت بالای آنتی‌اکسیدانی اکثر ارقام مورد بررسی بود (Hodaei *et al.*, 2019). در مطالعه‌ای ترکیبات فرار گل‌های داوودی (*Chrysanthemum morifolium*) مورد بررسی قرار رفت. در بررسی ایشان کریسانتینول استات (۴۳/۷۴ درصد) و وربنول (۲۷/۸۵ درصد) به‌عنوان ترکیبات غالب شناسائی شدند. نتایج این بررسی نشان داد گروه‌های اصلی عملکرد اسانس گل داوودی شامل استر و الکل می‌باشند (Chang and Kim, 2013).

با وجود اینکه داوودی یکی از گیاهان زینتی و دارویی پرمصرف بازار جهانی محسوب می‌شود، اما در سال‌های گذشته پژوهش‌های منسجم و کافی روی ارقام مختلف آن انجام نشده و عمده مطالعات به خصوصیات زینتی معطوف بوده است. بنابراین اطلاعات اندکی در زمینه ارزیابی تنوع ژنتیکی، خواص آنتی اکسیدانی و شاخص‌های فیتوشیمیایی ارقام مختلف گل داووی، به‌ویژه در ایران، در دسترس می‌باشد. در این مطالعه ارقام مورد مطالعه گل داوودی از لحاظ دارا بودن ترکیبات ثانویه و خواص دارویی مطلوب به‌منظور معرفی ارقام برتر و برنامه‌ریزی هدفمند برای پژوهش‌های به‌نژادی در زمینه دارویی و صنایع مورد ارزیابی قرار گرفتند.

مواد و روش‌ها

تهیه مواد گیاهی

در این مطالعه ۲۵ رقم گل داوودی اصلاح‌شده به روش دورگه‌گیری در پژوهشکده تحقیقات گل و گیاهان زینتی محلات تهیه شدند (جدول ۱). قلمه‌های ریشه‌دار شده این گیاهان با فاصله بین ردیف ۵۰ سانتی‌متر و فاصله روی ردیف ۴۰ سانتی‌متر، در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه لرستان در اردیبهشت ماه سال ۱۳۹۵ کشت شدند. اوایل آبان ماه زمانی‌که ۵۰ درصد گلچه‌های لوله‌ای و ۷۰ درصد گلچه‌های زبانه‌ای ارقام مختلف گل داوودی باز شدند (Kulisic *et al.*, 2004)، حدود ۳۵۰–۲۵۰ گل در ساعات اولیه صبح برداشت شدند.

استخراج اسانس گل

گل‌های برداشت شده در مرحله گلدهی کامل، به مدت یک هفته در سایه و در دمای اتاق، خشک گردیدند. سپس گل‌های خشک شده، خرد شدند و ۸۰ گرم آن با دستگاه کلونجر به روش تقطیر با آب، به مدت سه ساعت اسانس‌گیری شدند. اسانس خالص، تا زمان تزریق به دستگاه، در شیشه تیره و در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره با روش DPPH

قدرت عصاره گیاهی در به دام انداختن رادیکال‌های آزاد DPPH

بـر اسـاس روش کولیسـیک و همکـاران (Slinkard *et al.*, 1977) اندازه‌گیری شد. بـدین منظـور ۰/۱ میلـی‌لیتـر از عصـاره متـانولی، در غلظـت‌هـای مختلـف (ppm ۵۰، ۱۵۰ و ۳۰۰) تهیـه شـد، سـپس ۵ میلی‌لیتر محلول DPPH ۰/۱ میلی‌مولار به نمونه‌هـا افـزوده گردیـد. سپس جذب نمونه‌ها بـا دسـتگاه اسـپکتروفتومتر در طـول مـوج ۵۱۷ نانومتر قرائت شد. یک نمونه حاوی ۰/۱ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصـد و ۵ میلی‌لیتر محلول DPPH به‌عنوان کنترل استفاده شد. جهت بررسی فعالیت حذف‌کنندگی رادیکال DPPH از شاخص IC_{50} اسـتفاده شـد. IC_{50} بیانگر مقدار میلی‌گرم عصاره است که قادر به حـذف ۵۰ درصـد از رادیکال‌های DPPH موجود در محیط می‌باشد. بـه‌منظـور بررسـی بهتر این فعالیـت از آنتـی‌اکسـیدان سـنتزی (ButylatedHydroxy Toluene) BHT به‌عنوان کنترل مثبت استفاده گردید.

$$RSA\% = 100(1 - \frac{As - Ab}{Ac})$$

در فرمول ۱، جذب نمونه تیمار (A_S)، جـذب نمونـه شـاهد (A_c) و جذب نمونه بلنک (A_b) می‌باشد.

ارزیابی فلاونوئید کل: میزان فلاونوئیـد بـا روش رنـگ‌سـنجی آلومینیوم کلراید، اندازه‌گیری شد. بدین منظور ۰/۱ گرم از بـرگ گیـاه با متانول ۸۰ درصد به حجم ۱۰ میلـی‌لیتـر رسـیده و سـپس عصـاره حاصل روی شیکر با سرعت ۱۱۰ دور در دقیقه به مدت ۸ ساعت قرار گرفت. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره حاصل با ۴/۵ آب مقطر مخلوط شد. سپس به محصول حاصل ۰/۳ میلی‌لیتر نیتریت سدیم ۵ درصـد و پس از پنج دقیقه ۰/۶ میلی‌لیتر آلومینیوم کلراید ۱۰ درصد، اضافه شده و در نهایت ۲ میلی‌لیتر آب مقطر و ۲ میلی‌لیتر هیدروکسید سدیم یک مولار اضافه شد و شدت جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۱۵ نانومتر بـا دسـتگاه اسـپکتروفتومتر قرائـت شـد و بـا رسـم منحنـی اسـتاندارد کوئرستین در غلظت‌های مختلـف، میـزان فلاونوئیـد کـل نمونـه‌هـا محاسبه شد. در پایان میزان فلاونوئید عصاره‌ها به‌صورت معادل میلی گرم کوئرستین در ۱۰۰ گرم وزن خشک گیاه محاسبه و گـزارش شـد (Hossain *et al.*, 2011).

ارزیابی فنـل کـل بـرگ: مقـدار فنـل کـل موجـود در عصـاره برگ‌های این گیاه به‌وسیله رنگ سنجی فولین–سیوکالتیو و بـه روش اسکلینکارد و سینگلتون (Slinkard *et al.*, 1977) مورد بررسی قـرار گرفت برای این منظور مقدار ۲/۵ گرم پودر برگ خشک شده گیاه بـه همراه ۵۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصـد بـه مـدت ۲۴ سـاعت بـر روی شیکر قرار گرفت. سپس عصاره حاصل سه مرتبه از کاغذ صافی عبور داده شد تا محلول شفافی به‌دست آید. مقدار ۰/۵ میلی‌لیتـر از عصـاره استخراجی رقیق شده با ۲/۵ میلی‌لیتر از معرف فولین–سیوکالتو رقیق شده و ۲ میلی‌لیتر از معرف کربنات سدیم ۷/۵ درصد به خوبی مخلوط و لوله‌های آزمایش به مـدت ۱۵ دقیقـه در حمـام بـن‌مـاری ۵ درجـه سانتی گراد قرار داده شد. سپس مقدار جذب محلـول توسـط دسـتگاه اسپکتروفتومتر در طول مـوج ۷۶۵ نـانومتر قرائـت شـد. بـرای رسـم منحنی استاندارد از اسید گالیک استفاده شد. مقدار فنل کل با استفاده از معادله خط رسم شده برای اسید گالیک، بر مبنای میلی‌گرم در گرم ماده خشک بیان گردید.

بررسی اثر ضد باکتریایی

اثر ضد باکتریـایی عصـاره آبـی گـل داوودی بـا روش انتشـار در دیسک انجام شد و قطر هاله عدم رشد برحسب میلی متر اندازه گیـری شد (Mazandarani *et al.*, 2007). قطر هاله عدم رشـد کمتـر از ۸ میلی‌متر به‌عنوان مقاوم، ۸ تا ۱۲ میلی‌متر به‌عنـوان نسـبتاً حسـاس و بیشتر از ۱۲ میلی‌متر به‌عنوان حسّاس در نظر گرفته شد از پلـی‌اتـیلن گلیکول ۱۰ درصد به عنوان شاهد منفی و از آنتی بیوتیک جنتامایسـین به‌عنوان شاهد مثبـت اسـتفاده گردیـد. ابتـدا از دو سـویه باکتریـایی سوسپانسیون میکروبی با کدورتی معادله لوله ۰/۵ مـک فارلنـد تهیـه شد. سپس با ۱۰۰ میکرو لیتر از سوسپانسـیون تهیـه شـده بـر سـطح محیط کشت مولر هینتون آگار کشت یکنواختی از باکتری‌ها انجام شد آنگاه دیسک‌های حاوی رقت‌های مختلف عصاره بـا فاصـله معـین از یکدیگر از لبه پلیت بر روی سـطح یکنواخـت آگـار قـرار داده شـدند، پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گـراد گـرم‌خانـه گذاری شده و نتایج اثر ضد باکتریایی با اندازه گیری قطـر هالـه عـدم رشد اطراف دیسک‌ها ثبت شد (Mazandarani *et al.*, 2007).

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه واریـانس و مقایسـه میـانگین‌هـا بـا اسـتفاده از نـرم‌افـزار SAS.9.1 و آزمون LSD در سطح احتمـال ۵ درصـد انجـام و رسـم نمودار با نرم‌افزار اکسل صورت گرفت. تجزیـه خوشـه‌ای داده‌هـا بـه روش Ward با استفاده از نرم‌افزار مینی تب انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد که ارقـام گـل داوودی مورد مطالعه از نظر شاخص‌هـای فیتوشـیمیایی نظیـر فعالیـت آنتـی-اکسیدانی، فنول و فلاونوئید کـل و میـزان اسـانس مـورد بررسـی در سطح احتمال یک درصد دارای تفاوت معنی‌دار بودند.

محتوای فلاونوئید کل استخراج شده از گل‌هـای خشـک‌شـده در شکل ۱ نشان داده شده است. بر اساس نتایج به‌دست آمده، بیش‌ترین میزان ترکیبات فلاونوئیدی به رقم 'گلنار' (۵۵/۶۲ میلی‌گرم بـر گـرم وزن خشک) و کم‌ترین میزان آن به رقم 'دیلا' (۱۱/۹۱ میلی‌گرم بـر گرم وزن خشک) اختصـاص داشـت. دوه و همکـاران (Duh *et al.*, 1999) محتوای کل فلاونوئید عصاره آبی گونـه *C. morifolium* در ارقام چینی را ۱۰/۸۳ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم گزارش نمودند.

جدول ۱- ارقام گل داوودی مورد بررسی در این مطالعه

Table 1– Assessed *Chrysanthemum* cultivars in this study

شماره Number	نام Name	شماره Number	نام Name
1	Tihoo (تیهو)	14	Golnar (گلنار)
2	Dila (دیلا)	15	Paridokht (پریدخت)
3	Shekarnaz (شکرناز)	16	Darya2 (دریا۲)
4	Sana (ثنا)	17	Mani2 (مانی۲)
5	Oran (اوران)	18	Nastaran (نسترن)
6	Taban3 (تابان۳)	19	Farahnaz (فرحناز)
7	Nadiea2 (نادیا۲)	20	Andia (آندیا)
8	Norouz3 (نوروز۳)	21	Avadis (آوادیس)
9	Kimia3 (کیمیا۳)	22	Shahin (شهین)
10	Afshan (افشان)	23	Elmira2 (المیرا۲)
11	Golgis (گل‌گیس)	24	Tannaz (طناز)
12	Nazgol (نازگل)	25	Yasamin (یاسمین)
13	Ashraf (اشرف)		

جدول ۲- جدول تجزیه واریانس صفات فیتوشیمیایی در ارقام گل داوودی

Table 2- Analysis of variance for the phytochemical traits in different *Chrysanthemum* cultivars

منبع تغییرات Source of variation	درجه آزادی df	میزان اسانس Essential oil content	فعالیت آنتی‌اکسیدانی Antioxidant activity (IC_{50})	فلاونوئید کل Total flavonoid	فنول کل Total phenol
تکرار Rep	2	0.009650**	5443.17**	498.86**	288.79**
رقم Cultivar	24	0.005776**	4.86ns	0.752ns	0.198ns
اشتباه آزمایشی Error	48	0.000176	9.09	2.208	3.15
کل Total	74	–	–	–	–
ضریب تغییرات CV (%)	-	0.412	2.365	1.586	22.389

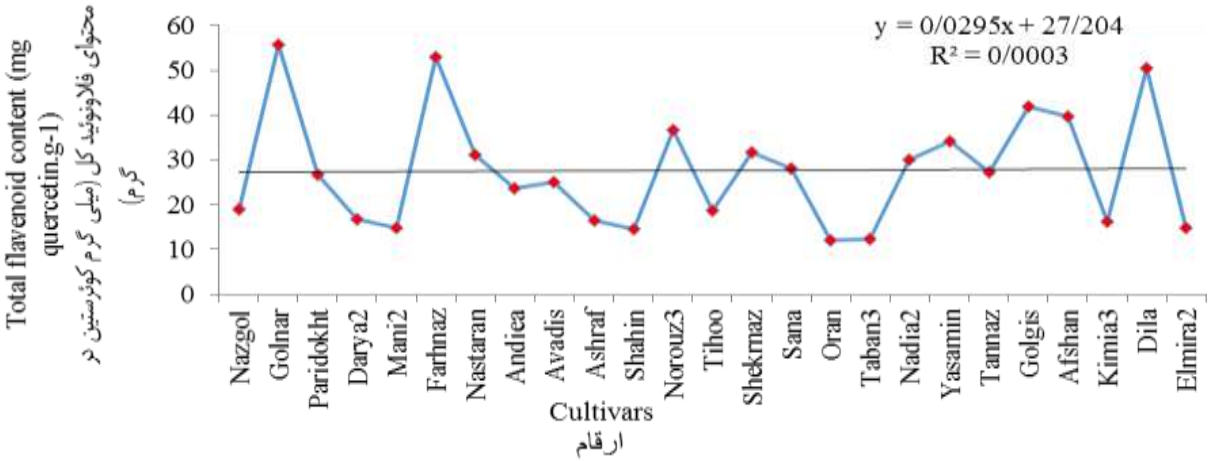
ns: غیرمعنی‌دار و**: معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

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

بر این اساس محتوای فلاونوئید عصاره متانولی این گونه در ارقام ایرانی بیش‌تر از این میزان در عصاره آبی ارقام چینی می‌باشند. این تفاوت می‌تواند ناشی از تفاوت در نوع ارقام مورد بررسی یا حلال‌های مختلف (آبی، متانولی) باشد. رنج‌های مختلفی از میزان فلاونوئید کل در گونه‌های مختلف داوودی در دیگر کشورها بر اساس کاربرد استانداردها و حلال‌های مختلف گزارش شده است. هدایی و همکاران (Hodaei *et al.*, 2019)، با بررسی ارقام هیبرید داوودی‌های ایرانی گونه *C. morifolium* با عصاره متانولی، محتوای فلاونوئید کل را بین ۱۲/۶۲ و ۵۳/۱۷ گزارش نمودند.

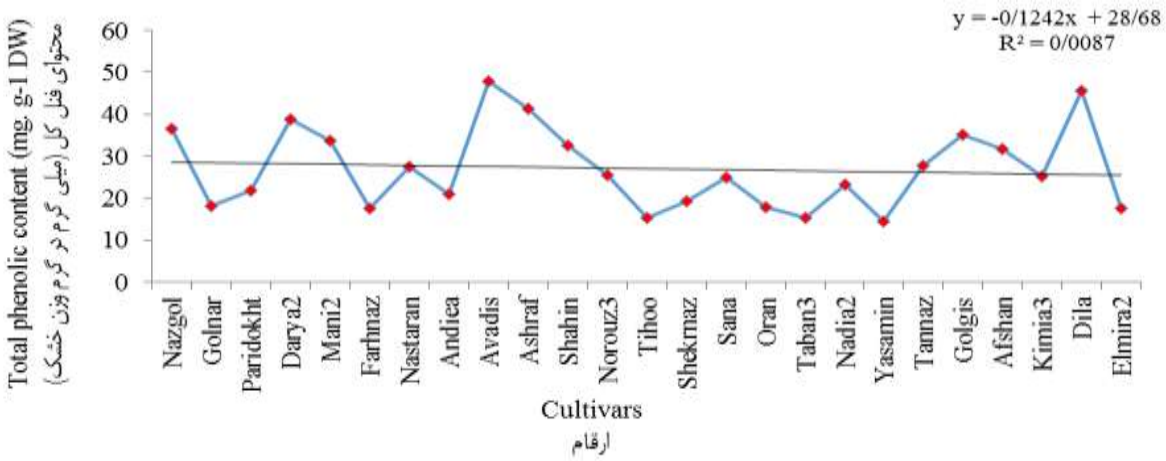
بر اساس نتایج به‌دست آمده، ارقام 'آوادیس' و 'دیلا' بیش‌ترین میزان ترکیبات فنولیک (۴۷/۹۰ و ۴۵/۸۶ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) و کم‌ترین میزان آن به رقم 'یاسمین' (۱۴/۵۲ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) مربوط بود. دوه و همکاران (Duh *et al.*, 1999) میزان ترکیبات فنولیک عصاره آبی گونه *C. morifolium* در ارقام چینی را بین ۳۲/۳ تا ۵/۷ و میزان فنل کل برگ گونه *C. balsamita* در کشور بلغارستان بین ۹۶/۲۰ تا ۱/۰۷ بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم گزارش شده است (Alexieva *et al.*, 2013). بر اساس گزارش هانگ و همکاران (Hung *et al.*, 2012)

نیز میزان فنل کل در گونه مورد مطالعه بیش‌تر از گونه *indicum* برآورده شده است (Dixon and Paiva, 1995). در مطالعه هدایی و همکاران (Hodaei *et al.*, 2019)، محتوای ترکیبات فنولیک بین ۱۷/۶۳ و ۳۳/۲۰ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک متغیر بود.



شکل ۱- محتوای فلاونوئید کل ارقام مختلف گل داوودی

Figure 1- Total Flavonoid contents in different Chrysanthemum cultivars

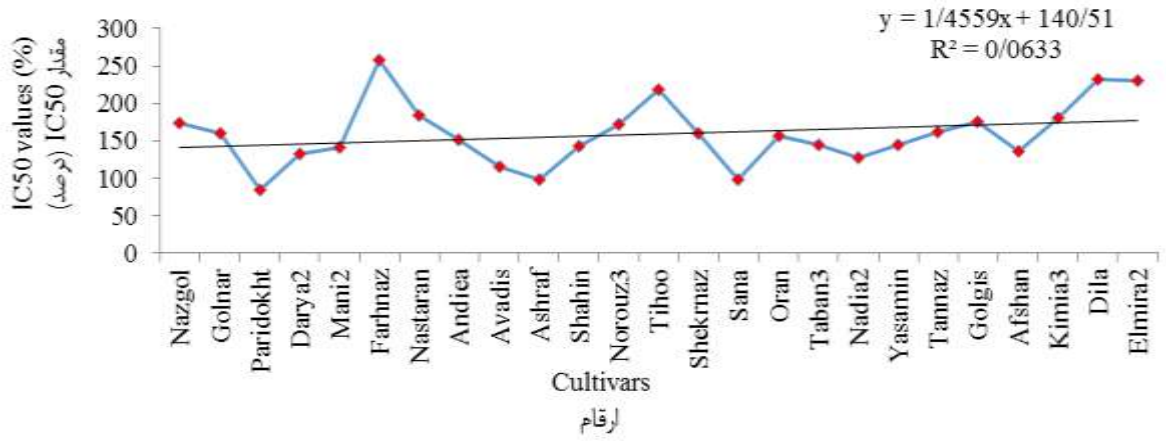


شکل ۲- محتوای فنل کل ارقام مختلف گل داوودی

Figure 2- Total Phenolic contents in different *Chrysanthemum* cultivars

شاخص IC_{50} اندازه‌گیری شده در ارقام مورد بررسی، طیف گسترده‌ای را از بیشینه ۲۵۷/۴۳۳ تا کمینه ۸۳/۹۲ میکرو گرم/میلی‌لیتر، به‌ترتیب در ارقام 'فرحناز' و 'پریدخت' به خود اختصاص داد. بنابراین رقم 'پریدخت' و در رتبه‌های بعدی ارقام 'اشرف' و 'ثنا' بیش‌ترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی را نسبت به سایر ارقام و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT داشتند (شکل ۳). ترکیبات آنتی‌اکسیدانی خود به‌عنوان ترکیبات دارویی مهم قابل توجه هستند. تنوع مشاهده شده در میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی ارقام مورد مطالعه، علاوه بر این‌که بیانگر فعالیت بالای آنتی‌اکسیدانی عصاره گل‌های گیاه داوودی می‌باشد، تفاوت بالای ژنتیکی بین ارقام و تنوع در صفت مورد بررسی را نیز نشان می‌دهد. کاربرد انواع استانداردها و حلال‌های مختلف در اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی مقایسه را دشوار می‌سازد. دوه و همکاران (Duh *et al.*, 1999) میزان فعالیت آنتی‌رادیکالی عصاره آبی در ارقام داوودی چینی را ۷۱ تا ۹۵ درصد گزارش نمود. در حالی‌که زنگ و همکاران (Zeng *et al.*, 2014) میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی کم‌تری (۱۱ درصد) را در عصاره اتانولی ارقام چینی مشاهده نمودند.

در مطالعه‌ای بر روی ۲۰ گیاه مختلف از خانواده Asteraceae بیش‌ترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی براساس روش DPPH در برگ‌های این گونه‌ها (۱۵/۱۲ درصد) نسبت به گل (۸/۱۷ درصد) و ساقه (۹/۶۱ درصد) گزارش شد (Hwang *et al.*, 2016).



شکل ۳- مقادیر IC_{50} اندازه‌گیری‌شده در ارقام گل داوودی

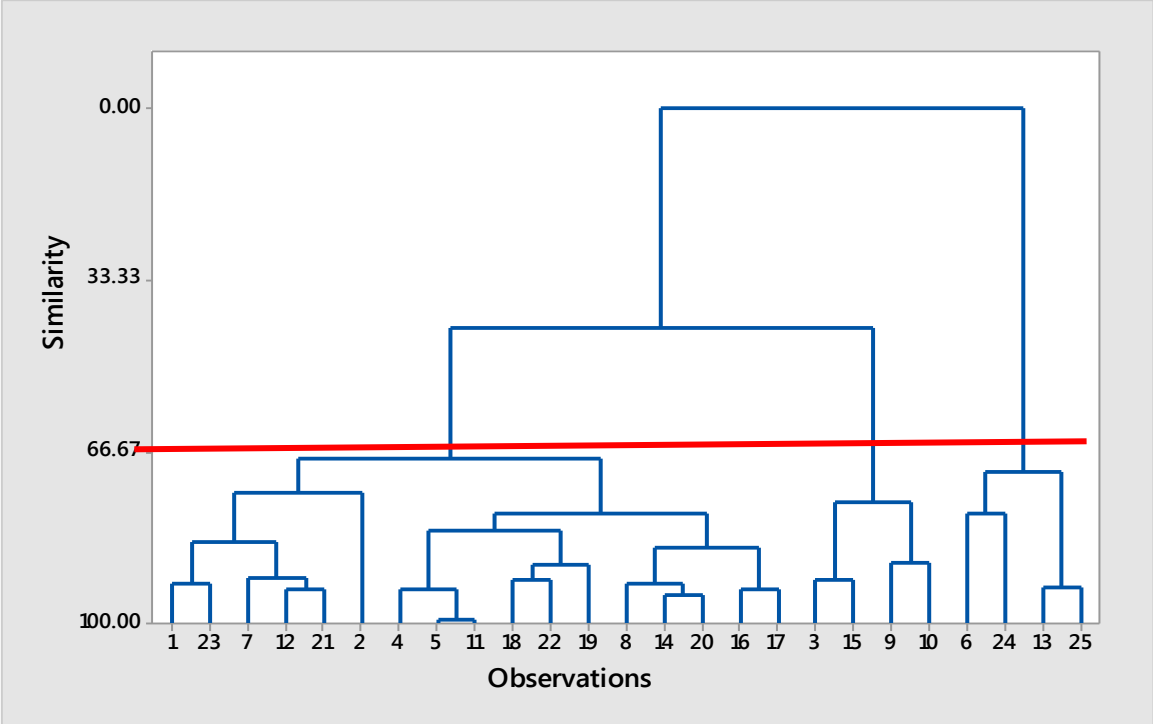
Figure 3- IC_{50} values evaluated in *Chryanthemum* cultivars

تجزیه خوشه‌ای

تجزیه خوشه‌ای برای تمام صفات اندازه‌گیری شده به روش حداقل واریانس Ward صورت گرفت. مناسب‌ترین نقطه برش دندروگرام همه ارقام داوودی مورد مطالعه را به سه گروه تقسیم‌بندی نمود (شکل ۴). گروه اول شامل ارقام نازگل، گلنار، نسترن، نوروز۳، گل‌گیس و کیمیا۳ بود که به دو زیر گروه تقسیم شدند. زیرگروه اول ارقام نازگل، نسترن، نوروز۳، گل‌گیس و کیمیا۳ را شامل شدند که این ارقام با داشتن میزان متوسط و مشابهی از IC_{50} و میانگین درصد اسانس بین ۰/۵۳-۰/۴ در بین ارقام مورد مطالعه بودند. رقم گلنار به‌تنهایی در زیرگروه دوم گروه اصلی اول قرار گرفتند. این رقم دارای میزان فلاونوئید بالاتری نسبت به سایر ارقام این کلاستر برخوردار بود که آن‌ها را از زیر گروه اول، گروه اول متمایز می‌نمود. زیرخوشه دوم کلاستر اول، بیشترین میزان ارقام را شامل شد. این گروه دارای سطح مطلوبی از میزان ترکیبات فنولی، فلاونوئید و درصد اسانس بودند. گروه اصلی دوم شامل ارقام فرحناز، تیهو، اوران و تابان ۳ بود. این ارقام از نظر همه صفات به غیر از میزان کل فنل که در آن‌ها تقریبا بالا بود، از میزان متوسط و مشابهی برخوردار بودند. گروه سوم نیز به دو زیرخوشه تقسیم شد، در زیرخوشه اول ارقام فرحناز و دیلا قرار گرفتند، دارای تشابه فراوانی از نظر قدرت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH و میزان کل فلاونوئید بودند و از سایر ارقام متمایز شدند (شکل ۴). دو رقم تیهو و المیرا۲ با بالاترین میزان اسانس و شاخص IC_{50} در زیرخوشه دوم، گروه سوم قرار گرفتند. وجود تنوع در بین ارقام داوودی مورد مطالعه، گام بعدی انتخاب مواد گیاهی مناسب در بین گروه‌ها برای انجام برنامه‌های اصلاحی است. بر این اساس می‌توان انتظار داشت ارقام ثنا، پریدخت و اشرف که دارای کمترین IC_{50} (بیشترین فعالیت آنتی‌رادیکالی) بتوانند از لحاظ صفات زیست-شیمیایی مورد بررسی برتر از ارقام موجود ظاهر شوند و همچنین تلاقی آن‌ها با ارقام گروه اول بتواند ارقام موجود در این گروه را به لحاظ میزان آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات زیستی ارتقا بخشد. در مطالعه هدایی و همکاران (Hodaei *et al.*, 2019)، تجزیه خوشه‌ای بر اساس صفات آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات زیست فعال ارقام ایرانی گل داوودی (*Chrysanthemum morifolium*)، مورد بررسی را به ۵ گروه اصلی تقسیم‌بندی نمودند.

برخی مطالعات پیشنهاد کرده‌اند که ترکیبات پلی‌فنولیک اندام‌های گیاه تحت تاثیر ژنوتیپ و عادت رشد می‌باشد (Orhan *et al.*, 2007). اگر چه ارتفاع، نور، دما و میزان مواد غذایی قابل دسترس در خاک نیز می‌تواند متابولیسم فنیل پروپانوئید را تحت تاثیر قرار دهد (Dixon and Paiva, 1995). مرحله بلوغ گیاه در زمان برداشت نیز یکی از فاکتورهای مهم تاثیرگذار روی میزان ترکیبات فنولیک می‌باشد. بیستریکا و همکاران (Bystricka *et al.*, 2010)، نشان دادند که میزان و نوع ترکیبات فنولی در گیاهان دارویی به گونه، نوع اندام و مرحله رشد گیاه بستگی دارد. کلن و تپ (Kelen and Tepe, 2008) با تحقیق روی خصوصیات فیتوشیمیایی گونه‌های مختلف مریم گلی بومی ترکیه نشان دادند که این گونه‌ها دارای ترکیبات ارزشمندی بوده و تفاوت‌های معنی‌داری از لحاظ صفات مورد مطالعه داشتند. تفاوت در محتوای فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در سایر گونه‌ها (گونه میخک وحشی ایران) نیز گزارش شده است (Nisreen, 2015 و Dixon and Paiva, 1995). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که ارتباط مستقیمی بین خصوصیات فیتوشیمیایی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی وجود دارد. خصوصیات فیتوشیمیایی (بخصوص فنول و

فلاونوئید کل) ارقام 'پریدخت'، 'اشرف' و 'ثنا' دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بهتری نسبت به سایر ارقام داشتند. در مطالعه اسدی و همکاران (Asadi *et al.*, 2010) روی شش گونه مریم‌گلی بومی ایران نشان داد که اثرات آنتی‌اکسیدانی بالای گونه‌هایی از سالویا مانند *S.hydrangea* و *S.macilenta* به خاطر وجود ترکیبات فنولی و فلاونوئیدها می‌باشد.



شکل ۴- تجزیه خوشه‌ای ارقام گل داوودی مورد مطالعه بر اساس صفات فیتوشیمیایی

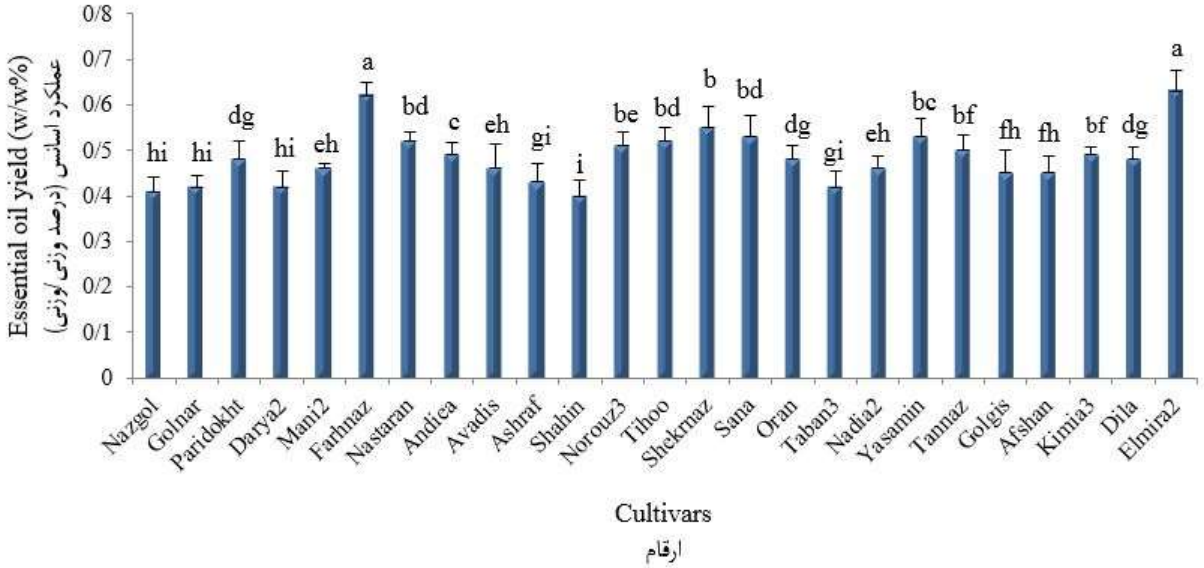
Figure 4- Cluster analysis of *C. morifolium* cultivars studied based on phytochemical traits

ارقام گل داووی: ۱-نازگل، ۲-گلنار، ۳-پریدخت، ۴-دریا۲، ۵-مانی۲، ۶-فرحناز، ۷-نسترن، ۸-آندیا، ۹-آوادیس، ۱۰-اشرف، ۱۱-شهین، ۱۲- نوروز۳، ۱۳-تیهو، ۱۴-شکرناز، ۱۵-ثنا، ۱۶-اوران، ۱۷- تابان ۳، ۱۸- نادیا۲، ۱۹-یاسمین، ۲۰-طناز، ۲۱، گل‌گیس، ۲۲-افشان، ۲۳-کیمیا۳، ۲۴-دیلا، ۲۵-المیرا۲

C. morifolium cultivars: 1-Nazgl, 2- Golnar, 3-Paridokht, 4-Darya2, 5-Mani2, 6-Farhnaz, 7-Nastaran, 8-Andiea, 9-Avadis, 10-Ashraf, 11-Shahin, 12-Norouz3, 13-Tihoo, 14-Shekrnaz, 15-Sana, 16-Oran, 17-Taban3, 18-Nadia2, 19- Yasamin, 20- Tannaz, 21- Golgis, 22- Afshan, 23- Kimia3, 24- Dila, 25- Elmira2

اسانس در ارقام مختلف به رنگ‌های سبز، زرد و آبی و میزان آن در دامنه‌ای بین ۰/۴۱ تا ۰/۶۲ درصد (وزنی/وزنی) متغیر بود (شکل ۵). در این مطالعه، بیش‌ترین درصد اسانس به‌ترتیب در ارقام فرحناز و المیرا۲ مشاهده شد. ارقام نازگل و گلنار و.... نیز دارای کم‌ترین درصد اسانس بودند. با توجه به این‌که همه ارقام در یک محیط و در شرایط اقلیمی تقریبا یکسان کشت شده‌اند، عمده تفاوت در میزان اسانس را می‌تواند به ژنوتیپ گیاه نسبت داد. در بررسی هدایی و همکاران (Hodaei *et al.*, 2019)، میزان اسانس گل داوودی ارقام ایرانی بین ۰/۰۷ تا ۰/۵۳ (وزنی/وزنی) متغیر بود. بر اساس تحقیقات انجام شده در ارقام داوودی چینی میزان اسانس بین ۰/۱ تا ۰/۲۶ درصد گزارش شد (Wang *et al.*, 2008). در مطالعه چانگ و همکاران (Chang and Kim, 2013)، میزان اسانس در *C. morifolium* بین ۰/۱ درصد (وزنی/وزنی) گزارش شد.

در ارقام ایرانی مورد بررسی در این تحقیق علاوه بر وجود تنوع قابل توجه از نظر ترکیبات زیست فعال، آنتی‌اکسیدانی و میزان اسانس، درصد اسانس بیش‌تری نیز نسبت به ارقام چینی مشاهده شد. همچنین بر اساس مطالعات انجام شده، درصد اسانس گزارش شده برای سایر گونه‌ها مانند *C. fontanesi* (۰/۱ درصد) و *C. coronarium* (۰/۰۶) بسیار کمتر از این میزان در گونه *morifolium* بوده است (Lograda *et al.*, 2013). در مطالعه حاضر، ارقام درنا ۲، ساحل و شکوه علاوه بر درصد اسانس بالا از عملکرد گل بالایی نیز برخوردار بودند که صرفه اقتصادی تولید اسانس در این ارقام را به مراتب افزایش می‌دهد.



شکل ۵- درصد اسانس (وزنی/وزنی) ارقام مختلف گل داوودی

Figure 5- Essential oil content (W/W%) of different *Chrysanthemum* cultivars

بررسی میانگین قطر هاله عدم رشد در هر روش انتشار دیسک مشخص کرد که عصاره آبی ارقام گل داوودی بر روی همه باکتری‌های منتخب اثر مهارکنندگی داشته و بیشترین اثر آن مربوط به دیسک غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر میلی لیتر عصاره بوده است یا به عبارت دیگر با افزایش غلظت عصاره میزان اثرگذاری آن بر روی رشد باکتری‌های مورد مطالعه به‌صورت قابل توجهی افزایش یافته و موجب افزایش قطر هاله عدم رشد و حساسیت این باکتری‌ها نسبت به عصاره شد (Bonjar, 2004).

جدول ۳- میانگین قطر هاله عدم رشد در غلظت‌های مختلف عصاره آبی گل داوودی به روش انتشار در دیسک برحسب میلی‌متر

Table 3- Mean diameter of non-growth halo in different concentrations of aqueous extract of chrysanthemum by disk diffusion method in millimeters

باکتری Bacteria	ارقام گل داوودی Chrysanthemum cultivars	غلظت Concentrations					
		12.5	25	50	100	250	500
Escherichia coli	Sana	-	7	9	11	13	15
Staphylococcus aureus		14	19	19	21	25	26
Escherichia coli	Paridokht	-	8	10	11	12	14
Staphylococcus aureus		12	16	16	19	20	22
Escherichia coli	Ashraf	-	6	9	10	11	13
Staphylococcus aureus		-	10	11	14	17	22

در تحقیق حاضر توانایی عصاره آبی سه گونه گل داوودی که خواص آنتی‌اکسیدانی بالاتری نسبت به سایر ارقام داشتند، بر مهار رشد باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس و باکتری گرم منفی اشریشیاکلی عوامل ایجاد عفونت مجاری ادرار به روش انتشار در دیسک پرداخته شد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که عصاره آبی سه رقم (پریدخت، ثنا و اشرف) گل داوودی روی همه‌ی باکتری‌های منتخب اثر مهارکنندگی داشت (جدول ۳).

نتایج به‌دست‌آمده از این تحقیق نشان داد که باکتری‌های گرم مثبت و منفی به این عصاره حساس بودند، نتایج مطالعه حاضر نشان داد که با افزایش غلظت عصاره حساسیت باکتری‌های منتخب نسبت به عصاره افزایش یافت. در سال‌های اخیر تحقیقات فراوانی در زمینه اثرات ضد میکروبی گیاهان مختلف صورت گرفته است، در این بررسی‌ها نشان داده شد بعضی از گیاهان تاثیراتی همانند داروهای شیمیایی یا به مراتب بیشتر از آن‌ها دارند (Ahvazi *et al.*, 2012 و Sadeghi, 2002). گل داوودی نیز یک گیاه دارویی سنتی است که در طب سنتی مصارف گوناگونی داشته و جهت درمان التهاب، بیماری‌های چشمی، سردرد، سرگیجه و سرماخوردگی و..... کاربرد دارد، ولی تاکنون گزارشی در خصوص اثرات ضد میکروبی آن در

ایران ارائه نشده است. همان طور که در قسمت نتایج مشخص گردید، عصاره آبی برگ این گیاه اثرات قابل توجهی علیه باکتری‌های گرم مثبت از جمله استافیلوکوکوس اورئوس داشته و بر باکتری‌های گرم منفی این تاثیر ضعیف‌تر بوده است. تحقیقات نشان داده است که غلظت عصاره برشدت اثر ضدمیکروبی آن مؤثر هست (Khosravi and Malecan, 2004). محمودی و همکاران (Mahmoudi *et al.*, 2010) در بررسی اثر عصاره گیاهان نعناع، مریم گلی، زیره کاکوتی و زنیان به ترتیب با میزان بازدارندگی ۶/۳، ۶/۱۷، ۵/۷۷، ۴/۷۷ سانتی‌متر بالاترین میزان بازدارندگی و اسانس گیاهان بومادران، گشنیز، گلپر و عصاره مریم گلی کمترین اثر را نشان دادند. عصاره آبی چریش بیشترین میزان بازدارندگی و عصاره آبی آنغوزه و آویشن هیچ گونه تاثیری در رشد باکتری نداشتند. در بررسی اثر عصاره‌های گیاهی بر باکتری سودوموناس سرینگه اسانس آویشن، زنیان، زیره و نعناع، با بازداری ۳/۲۷، ۲/۲۲، ۲/۱۷، ۲ سانتی‌متر بیشترین اثر و کاکوتی، گشنیز و رزماری دارای اثر متوسط بوده و اسانس مریم گلی و آنغوزه تاثیری در جلوگیری از رشد باکتری نداشتند. طاهری عزیز آبادی و همکاران (Taheri Azizabadi *et al.*, 2013) به‌منظور بررسی خاصیت ضدباکتریایی عصاره برگی گیاه دارویی به‌لیمو، از عصاره‌های این گیاه در غلظت‌های مختلف ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر استفاده نمودند آن‌ها دریافتند که غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره برای باکتری سودوموناس سرینگه با میانگین قطر هاله ۱۰ میلی‌متر بیشترین اندازه هاله را به خود اختصاص داده است که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. در پژوهش دیگری طبرسا و همکاران (Tabarsa *et al.*, 2017) به بررسی اثر ضدباکتریایی عصاره برگ به‌لیمو بر روی باکتری‌های اشریشیاکلای و استافیلوکوکوس اورئوس پرداختند. نتایج نشان داد که غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی برگ به‌لیمو موجب کاهش تعداد باکتری‌ها گردید به گونه‌ای که هر چه به غلظت عصاره در زمان‌های مختلف افزوده می‌شود، تعداد باکتری‌ها کاهش می‌یابد و این کاهش با افزایش زمان بیشتر می‌گردد (Agrios, 2005). طی تحقیقاتی اثر ضد میکروبی عصاره ۴۵ گونه گیاه بومی ایران علیه سویه از باکتری استافیلوکوکوس اورئوس (Bonjar, 2004) و ۱۱ گونه گیاه دارویی بر باسیلوس سرئوس (Hamdan *et al.*, 2007) مورد بررسی قرار گرفت و مشاهده شد که با رقیق شدن عصاره‌ها از اثر ضد میکروبی آنها کاسته می‌شود که همسو با نتایج تحقیق حاضر بود.

نتیجه‌گیری

نتایج به‌دست آمده از مطالعه حاضر، نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در بین ارقام مختلف از نظر مقدار کل ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و آنتی‌اکسیدانی بوده که وجود چنین تنوعی می‌تواند نقش رقم و ژنتیک در تولید این ترکیبات باشد. بر اساس نتایج این مطالعه ارقام گل داوودی با دارا بودن سطح مطلوبی ار ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی می‌تواند به‌عنوان یک منبع آنتی‌اکسیدان طبیعی به‌عنوان جایگزین آنتی‌اکسیدان مصنوعی مورد استفاده قرار گیرد. در این مطالعه ارقام 'پریدخت'، 'اشرف' و 'ثنا' از نظر شاخص‌های فیتوشیمیایی و ضدباکتریایی مورد بررسی برتر از ارقام موجود ظاهر شدند. نتایج حاصل از این پژوهش را می‌توان در جهت انتخاب صحیح والدین برای انجام تلاقی‌های هدفمند در برنامه‌های اصلاحی دارویی و صنایع گل داوودی به‌منظور بهبود صفات فیتوشیمیایی ارقام موجود به کار برود.

منابع

1. Agrios G.N. 2005. Plant pathology. 5thed.Academic press, San Francisco, California. Pp.922.
2. Ahvazi M., Khalighi-Sigaroodi F., Charkhchiyan M.M., Mojab F., Mozaffarian V-A., and Zakeri H. 2012. Introduction of medicinal plants species with the most traditional usage in Alamut region. Iranian Journal of Pharmaceutical Research: IJPR 11(1): 185. (In Persian with English abstract)
3. Alexieva I., Mihaylova D., and Popova A. 2013. Evaluation of the antioxidant capacity of aqueous extracts of fresh *Chrysanthemum balsamita* L. leaves growing in Bulgaria. Научни трудове на русенския університет серия. 10: 88-91.
4. Asadi S., Ahmadiani A., Esmaeili M.A., Sonboli A., Ansari N., and Khodagholi F. 2010. *In vitro* antioxidant activities and an investigation of neuroprotection by six Salvia species from Iran: A comparative study. Food and Chemical Toxicology 48: 341–1349.
5. Bonjar S. 2004. Evaluation of antibacterial properties of some medicinal plants used in Iran. Journal of Ethnopharmacology 94(2-3): 301-5.
6. Bystricka J., Vollmannová A., Margitanová E., and Cicova I. 2010 .Dynamics of polyphenolic formation in different plant parts and different growth phases of selected buckwheat cultivars. Acta Agriculturae Slovenica 95: 225-229.
7. Chang K.M., and Kim G.H. 2013. Volatile aroma constituents of gukhwa *(Chrysanthemum morifolium* Ramt.). Food Science and Biotechnology 22(3): 659-663.
8. Cheng W., Li J., You T., and Hu C. 2005. Anti-inflammatory and immunomodulatory activities of the extracts

from the inflorescence of *Chrysanthemum indicum* Linne. Ethnopharmacol 101(1-3): 334-7.
9. Cui Y., Wang X., Xue J., Liu J., and Xie M. 2014. *Chrysanthemum morifolium* extract attenuates high-fat milk-induced fatty liver through peroxisome proliferator-activated receptor alpha-mediated mechanism in mice. Nutrition Research 34(3): 268–275.
10. Da silva J.A.T. 2003. Chrysanthemum: advances in tissue culture, cryopreservation, postharvest technology, genetics and transgenic biotechnology. Biotechnology. Adv. 21: 715-766.
11. Dixon R.A., and Paiva N.L. 1995. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. Plant Cell 7: 1085-1097
12. Duh P.D., Tu Y.Y., and Yen G.C. 1999. Antioxidant activity of water extract of Harng Jyur (*Chrysanthemum morifolium* Ramat). Food Science and Technology 32: 269-277.
13. Guzelmeric E., Vovk I., and Yesilada E. 2015. Development and validation of an HPTLC method for apigenin 7-O-glucoside in chamomile flowers and its application for fingerprint Ethnopharmacology 101(1–3): 334–337.
14. Hamdan M., Al-Ismail K., and Al-Delaimy K. 2007. The antibacterial activity of selected edible plant extracts against Bacillus cereus. Jordan Journal of Agricultural Sciences 3(2): 148-55.
15. Hasanzadeh N. 2005.Technological implication of natural products in plant diseases management with special emphasis on fireblight, Journal of agriculture sciences Islamic Azad University 11(1): 53-67.
16. Hodaei M., Rahimmalek M., and Arzani A. 2019. Evaluation of some bioactive compounds and antioxidant activity of leaf methanolic extract and flower essential oil content from different cultivars of *Chrysanthemum morifolium*. Journal of Plant Production Research 25(4): 133-143. (In Persian with English abstract)
17. Hossain M.A., Shah M.D., Gnanaraj C., and Iqbal M. 2011. In vitro total phenolics, flavonoids contents and antioxidant activity of essential oil, various organic extracts from the leaves of tropical medicinal plant Tetrastigma from Sabah. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine 4(9): 717–721.
18. Hung C.Y., Tsai Y.C., and Li K.Y. 2012. Phenolic antioxidants isolated from the flowers of *Osmanthus fragrans*. Molecules 17: 10724-10737.
19. Hwang S.H., Paek J.H., and Lim S.S. 2016. Simultaneous ultra-performance liquid chromatography determination and antioxidant activity of linarin, luteolin, chlorogenic acid and apigenin in different parts of Compositae species. Molecules 21: 1609.
20. Kelen M., and Tepe B. 2008. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three Salvia species from Turkish flora. Biotechnology Journal 99: 4096–4104.
21. Khosravi A., and Malecan M. 2004. Effects of lavandula stoechas extracts on staphylococcus aureus and other gram negative bacteria.
22. Kulisic T., Radinoc A., Katalinic V., and Milos M. 2004. Use of different method for testing antioxidative activity of orange essential oil. Food Chemistry 85: 633-640.
23. Lin G.H., Lin L., Liang H.W., Ma X., Wang J.Y., Wu L.P., Jiang H.D,. Bruce I.C., and Xia Q. 2010. Antioxidant action of a *Chrysanthemum morifolium* extract protects rat brain against ischemia and reperfusion injury. Journal of Medicinal Food 13: 306-311.
24. Lograda T., Ramdani M., Chalard P., Figuered, G., Silin, H., and Kenoufi M. 2013. Chemical composition, antibacterial activity and chromosome number of Algerian populations of two Chrysanthemum species. Journal of Applied Pharmaceutical Science 3: 6-11.
25. Ma Y.L., Sun P., Feng J., Yuan J., Wang Y., Shang Y.F., and Wei Z.J. 2020. Solvent effect on phenolics and antioxidant activity of Huangshan Gongju (*Dendranthema morifolium* (Ramat) Tzvel. cv. Gongju) extract. Food and Chemical Toxicology 111875.
26. Mahmoudi H, Rahnama K., and Arabkhani M. 2010. Antibacterial Effect Essential oil and Extracts of Medicinal Plant on the Causal Agents of Bacterial Canker and Leaf Spot on the Stone Fruit Tree. Journal of Medicinal Plants 9(36) :34-42
27. Marotti M., Dellacecca V., Piccaglia R., and Glovanelli E. 1993. Agronomic and chemical evaluation of three varieaties of Foeniculum vulgare. Acta Horticulturae 331: 63-69.
28. Mazandarani M., Yassaghi S., Rezaei M., and Ghaemi E. 2007. Ethnobotany and anti bacterial activity from essential oil of two endemic Hypericum species in North of Iran. Asian Journal of Plant Sciences 6(2): 354-8.
29. Nisreen H. 2015. Flavonoid in flower and leaf of *Chrysanthemum* as antioxidants and therapeutic agents. Int. Hum. Res. J. online at www.ihrj.org. ISSN 2347-7067.
30. Orhan I., Zelik B., Kartal M., Zdeveci B., and Duman H. 2007. HPLC quantification of vitexine-2-Orhamnoside and hyperoside in three Crataegus species and their antimicrobial and antiviral activities. Chromatographia 66: 153-157.
31. Saboora A., Dadmehr K.H., and Ranjbar M. 2013. Total phenolic and flavonoid contents and investigation on antioxidant properties of stem and leaf extracts in six Iranian species of wild *Dianthus* L. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 29: 281-295.
32. Sadeghi G., Determination of Antibacterial Effect of Glycyrrhica Glabra on E. Coli, Salmonella Typhi, Shigella Flexneri and Shigella Sonnei. Thesis No (1249): Islamic Azad Univer Pharmacol Scien; 2002-2003. p. 10-99. (Text in Persian)

33. Slinkard K., and Singleton V.L. 1977. Total phenol analysis; automation and comparison with manual methods. American Journal of Enology and Viticulture 28: 49-55.
34. Sun H., Zhang T., Fan Q., Qi X., Zhang F., Fang W., Jiang J., Chen F., and Chen S. 2015. Identification of floral Scent in Chrysanthemum cultivars and wild relatives by Gas Chromatography- Mass Spectrometry. Molecules 20: 5346-5359.
35. Tabarsa H., Koohsari H., and Fadwa A. 2017. Antibacterial effect of lemon verbena leaf extract against Escherichia coli and Staphylococcus aureus in traditional ice cream. Journal of Food Research 26(4): 737-747.
36. Taheri Azizabadi H., Bagheri N.A., Babaeian N.A., and Sharifi Mehr S. 2013. Investigation of antibacterial properties of lemon (*Lippia citriodora*) juice extract on some strains of gram-positive and negative bacteria, National Conference on Medicinal Plants, Tehran, Ayatollah Amoli Branch of Science and Research.
37. Teixira D.S.J. 2004. Ornamental Chrysanthemum: improvement by biotechnology. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 79: 1-18.
38. Wang Y., Li J., Xu Z., Li M., Wang K., Pang S., and Ni Y. 2020. The formation process of green substances in Chrysanthemum morifolium tea. Food Chemistry 326: 127028.
39. Wang T., Zhu Z., Guo Q., and Mao P. 2013. Variation in major flavonoids glycosides and caffeoylquinic acids during florescence of three *Chrysanthemum morifolium* Ramat cv. 'Hangju' genotypes. Biochem. Systematic Ecology 47: 74-79.
40. Wang Y.J., Yang X.W., and Guo Q.S. 2008. Studies on chemical constituents in Huangjuhua (flowers of *Chrysanthemum morifolium*). Zhongguo Zhong Yao Za Zhi 33: 526-530.
41. Zeng Y., Deng M., Lv Z., and Peng Y. 2014. Evaluation of antioxidant activities of extracts from 19 Chinese edible flowers. Springerplus 3: 315.

Journal of Horticultural Science
https:// jhs.um.ac.ir

Research Article
Vol. 36, No. 1, Spring 2022, p. 163-175

Effect of Gibberellic Acid and Putrescine on Growth, Flowering and Vase Life of Lily Cut Flower (‘Lesotho’)

M. Hojjatipour[1], M. Hassanpour Asil[2*]

Received: 17-03-2021
Revised: 19-05-2021
Accepted: 28-08-2021
Available Online: 20-06-2022

How to cite this article:
Hojjatipour M., and Hassanpour Asil M. 2022. Effect of Gibberellic Acid and Putrescine on Growth, Flowering and Vase Life of Lily Cut Flower (‘Lesotho’). Journal of Horticultural Science, 36(1): 163-175. (In Persian with English abstract)
DOI: 10.22067/JHS.2021.69012.1025

Introduction

Lilium flower is a perennial herbaceous flowering plant, belonging to the Liliaceae family. Position of lilies as the fourth best-seller cut flower in the world, as well as the increasing trend of demand for this flower in the global market, indicates the importance of improving the quality and solving the sustainability issues of this flower. Gibberellins are one of the most important endogenous plant hormones involved in controlling plant dormancy. Gibberellin is a plant growth regulator that stimulates physiological responses in plants by affecting photosynthesis. Polyamines, including putrescine, spermidine, and spermine, are a group of plant growth regulators that have effects such as increasing cell division, biosynthesis of enzymes, regulating various developmental stages such as differentiation.

Materials and Methods

This study was performed to investigate the effect of gibberellic acid and putrescine on growth, flowering and vase life of Lilium cut flowers. Experiment was performed as factorial based on completely randomized design, included 16 treatments with 3 replications and 2 pots in each replication. The culture medium containing mold leaf soil, sand and perlite (1:1:1) and was prepared by disinfection with fungicide. The first treatment consisted of concentrations of 150, 300 and 450 mg/L gibberellic acid and onions were pre-treated by immersing for 24 hours. The second treatment consisted of concentrations of 0.5, 1 and 2 mM putrescine which was sprayed at the beginning of budding and continued every two weeks until the first bud flower coloring. Growth period conditions in green house were controlled. In this study, different parameters such as bud number, flowering stem length, fresh weight of cut flowers, relative fresh weight of cut flowers, water uptake of cut flowers, vase life, leaf chlorophylls a, b and total, petal carotenoid, percentage of petal cell membrane stability and total soluble solids of petals were examined.

Results and Discussion

The results showed that the application of gibberellic acid and putrescine improved the number of buds and increased cell membrane stability. Actually, gibberellic acid preserves the cell membrane by preventing the breakdown of proteins and increasing the pH, thus increasing the vase life. Also Putrescine protects cell membranes by removing free radicals. It is also known that gibberellic acid used at all levels in the experiment increased the height of the flower stem due to its role in cell division and elongation. Study of the flower stem water content and cut flower fresh weight, which are factors for longer vase life, showed that gibberellic acid increases the plant's ability to absorb water and increases these two traits. So that the highest cut flower fresh weight with 13 g difference compared to the control level belonged to the treatment level of 450 mg/L gibberellic acid. Also putrescine reduces plant water loss by increasing membrane permeability to calcium and

1- M.Sc Student in Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran
2- Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran
(*- Corresponding Author Email: hassanpurm@guilan.ac.ir)

increases the flower stem water content and cut flower fresh weight, which increases vase life. Also, gibberellic acid by creating water potential in the cell and putrescine by strengthening water relations and preventing blockage of water vessels increased the relative water uptake of cut flower. Thus, the greatest effect was observed on the third day post-harvest and the highest amount (2.47 ml. g^{-1} FW) on the third day belonged to the highest level of both treatments. Results also showed that all the levels of putrescine increased TSS due to its effect on the synthesis of sugars and carbohydrates in compared to control. The results showed that application of gibberellic acid and putrescine respectively at 300 mg/L and 2 mM, significantly increased the vase life compared to the control. The best vase life (15 days) occurred at 300 mg/L gibberellic acid and 2 mM putrescine. Although gibberellic acid increased growth and flowering of Lilium, but putrescine effectiveness on vase life of cut flower was more evident. The highest amount of leaf total chlorophyll (0.514 mg. g^{-1} FW) belonged to the treatment of 450 mg/L gibberellic acid and 2 mM putrescine and the lowest amount of leaf total chlorophyll (0.085 mg. g^{-1} FW) belonged to both treatments were at the control level. Also, in the study of petal carotenoid content, the highest amount belonged to the treatment of 450 mg/L gibberellic acid and 2 mM putrescine.

Conclusion

According to the results obtained from the present research, it can be concluded that use of gibberellic acid and putrescine had great effects on most of traits in compared to control treatment. The use of putrescine and gibberellic acid improves the flowering and vase life conditions by increasing water uptake and consequently increasing the relative fresh weight.

Keywords: Carotenoids, Cell membrane stability, Chlorophyll, Polyamine, Total soluble solids

نشریه علوم باغبانی
https:// jhs.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۶، شماره ۱، بهار ۱۴۰۱، ص ۱۷۵-۱۶۳

تأثیر اسید جیبرلیک و پوترسین بر رشد، گلدهی و عمر گلجای گل شاخه بریده سوسن رقم 'Lesotho'

مریم حجتی پور[۱]- معظم حسن‌پور اصیل[۲*]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۲/۲۷
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۶/۰۶

چکیده

سوسن گیاهی دایمی با سوخ‌های فلسی بدون پوشش است که متعلق به خانواده Liliaceae می‌باشد. معطر و بزرگ بودن گل‌ها از مشخصه‌های اصلی این خانواده است. جایگاه سوسن به عنوان چهارمین گل شاخه بریده پرفروش در بازار جهانی و همچنین سیر صعودی تقاضا برای این گل در جهان، حاکی از اهمیت بهبود کیفیت و افزایش ماندگاری این گل است. این مطالعه به منظور بررسی تأثیر جیبرلیک اسید و پوترسین بر رشد، گلدهی و ماندگاری گل‌های شاخه بریدنی سوسن به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا شد. پیاز سوسن Oriental×Trumpet رقم 'Lesotho' از شرکت Onings Holland تهیه شد. فاکتورهای مورد آزمایش شامل اسید جیبرلیک در ۴ سطح صفر (شاهد)، ۱۵۰، ۳۰۰ و ۴۵۰ میلی‌گرم در لیتر به صورت غوطه‌وری پیازها قبل از کشت و پوترسین در ۴ سطح صفر (شاهد)، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌مولار به صورت محلول پاشی در مرحله غنچه‌دهی انجام شد. آزمایش در شرایط گلخانه و محیط کشت حاوی خاکبرگ پوسیده، ماسه و پرلیت به نسبت مساوی (۱:۱:۱) در نظر گرفته شد. در این پژوهش شاخص‌های تعداد غنچه، طول ساقه گلدهنده، وزن‌تر گل شاخه بریده، وزن‌تر نسبی گل شاخه بریده، میزان جذب آب گل شاخه بریده، محتوای آبی ساقه گلدهنده، عمر گلجای، کلروفیل‌های a، b و کل برگ، کاروتنوئید گلبرگ، درصد پایداری غشاء سلولی گلبرگ و میزان کل مواد جامد محلول گلبرگ مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل نشان داد که استفاده از اسید جیبرلیک باعث افزایش ۷ سانتی‌متری ارتفاع گیاه نسبت به شاهد شد، همچنین اسید جیبرلیک و پوترسین به صورت توأم باعث بهبود صفات تعداد غنچه، پایداری غشاء سلولی از ۶۹/۷۳ به ۷۵/۷۱ درصد، افزایش کیفیت و عمر گلجای از ۹روز به ۱۱ روز گردید به طوری که بیشترین وزن تر نسبی گل شاخه بریده و میزان جذب آب توسط گل شاخه بریده در غلظت ۲ میلی‌مولار پوترسین به ترتیب به میزان ۱۰۰/۵۸ درصد و ۲/۴۷ میلی‌لیتر بر گرم وزن‌تر اتفاق افتاد. همچنین نتایج نشان‌دهنده اثر مثبت هر دو تیمار بر میزان رنگدانه‌های برگ و گلبرگ بود به گونه‌ای که کلروفیل کل ۰/۲۰ و در کاروتنوئید ۰/۰۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر نمونه افزایش نسبت به شاهد اتفاق افتاد. به طور کلی نتایج حاصل بیانگر تاثیر معنی‌دار اسید جیبرلیک و پوترسین بر بیشتر صفات اندازه‌گیری شده بود.

واژه‌های کلیدی: پایداری غشاء سلولی، پلی‌آمین، کاروتنوئید، کلروفیل، مواد جامد محلول

مقدمه

گل سوسن (*Lilium* sp.) گیاهی علفی پایا، گلدهنده و متعلق به خانواده لیلیاسه (Liliaceae) است و گل‌های بزرگ و معطر با تنوع رنگ بسیار زیاد از ویژگی‌های این خانواده می‌باشد (Abd-Allah *et al.*, 2013). در بین گیاهان ژئوفیت، گل سوسن دارای زیبایی منحصر به فرد و دارای گل‌های گران‌بهاست که به صورت شاخه بریدنی و یا گلدانی پرورش می‌یابد (Mohammadi Torkashvand *et al.*, 2018). با توجه به جایگاه سوسن در میان گل‌های شاخه بریدنی به عنوان رتبه چهارم فروش در جهان و همچنین سیر افزایشی تقاضای این گل در بازارهای جهانی، اهمیت به اعتبار اقتصادی پرورش این گل امری گریزناپذیر می‌باشد (Flora Holland, 2020). اهمیت این جنس در بازار جهانی گل، به علت وجود هیبریدهای متنوع و ارقام بی‌شمار تجاری است و همچنین بعضی از گونه‌ها به خاطر ارزش دارویی و غذایی شناخته شده‌اند که به اهمیت اقتصادی

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران
۲- استاد، گروه علوم باغبانی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: hassanpurm@guilan.ac.ir)
DOI: 10.22067/JHS.2021.69012.1025

این جنس می‌افزاید (Nabavi Mohajer *et al.*, 2018). رنگیزه کاروتنوئیدی بتا کاروتن، کپسانتین، کریپتوگزانتین، کپسوربین، زآگزانتین و کاروتنوئیدهای شبه echinenone در این گیاه وجود دارند (Banba, 1968). کاروتنوئیدها علاوه بر اهمیت ظاهری در بازار پسندی گل‌ها سه نقش عمده را برعهده دارند: اول اینکه نور در طول موج ۴۵۵ تا ۵۰۰ نانومتر را جا به جا کرده و به کلروفیل a انتقال می‌دهد، نقش دوم کارتنوئیدها این است که با دفع رادیکال‌های آزادی که به طور طبیعی طی فتوسنتز تولید می‌شوند، از دستگاه فتوسنتزی حفاظت می‌کنند و نقش سوم آن‌ها حفاظت فتوسیستم I، ثبات پروتئین‌های دریافت کننده نور و ثبات غشای تیلاکوئید است (Gill and Tuteja, 2010; Akbarian *et al.*, 2012). از صنایع پر سود کشاورزی در جهان کشت و کار گیاهان زینتی می‌باشد و از همین رو پیشرفت تولید و تجارت گیاهان زینتی را در سال‌های اخیر در سطح گسترده در جهان شاهد هستیم (Benschop *et al.*, 2010). یکی از موانع بزرگ برای صادرات گل سوسن مربوط به کیفیت گل‌ها به خصوص در زمان پس از برداشت می‌باشد. بنابراین مهار موانع در این امر بسیار مهم تلقی می‌شود (Santos *et al.*, 2018).

دخالت هورمون‌ها در تنظیم متابولیسم گیاه بسیار پیچیده است. بسیاری از آنزیم‌ها تقریبا تمام جنبه‌های متابولیسم گیاه را در پاسخ به محرک های هورمونی با کاهش یا افزایش سطح فعالیت خود پوشش می دهند. استفاده از مواد تنظیم کننده رشد گیاهی در کشاورزی نقش عمده‌ای درتنظیم بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیکی گیاه دارد و امروزه استفاده تجاری از این مواد در کشاورزی مدرن، بویژه در باغبانی، فراگیر شده است (Esna-ashari and Zokaee khosroshahi, 2008). استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی مخصوص گلدهی در مقایسه با سایر محصولات رایج‌تر است (Yamaguchi, 2008).

پلی‌آمین‌ها، شامل پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین یک گروه از مواد تنظیم‌کننده رشد گیاهی هستند که تاثیراتی مانند افزایش تقسیم سلولی، بیوسنتز آنزیم‌ها، تنظیم کردن مراحل نموی مختلف مانند تمایزیابی و گلدهی را بر عهده دارند (Martin-Tanguy, 2001). نتایج تحقیقات گذشته نشان داد تیمار پوترسین بر گل شاخه بریده آلسترومریا قبل و بعد از برداشت باعث افزایش عمر پس از برداشت و حفظ کیفیت نسبت به شاهد آزمایش شد (Soleimany *et al.*, 2014). همچنین نتایج تحقیقی نشان داد کاربرد پوترسین باعث تغییراتی در ویژگی‌هایی مانند بهبود محتوای رنگدانه‌های نورساختی در گل شاخه بریده داوودی شد (Kandil *et al.*, 2011). همینطور در تحقیقی دیگر گزارش شد که اعمال تیمار برگی پوترسین بر گل کوکب، افزایش رشد، گلدهی و ویژگی‌های فتوسنتزی را به دنبال داشته است (Mahgub *et al.*, 2011).

گلدهی کنترل شده در زمان مناسب عاملی در جهت بهبود کشت و کار گیاهان زینتی است. از مهم‌ترین تنظیم‌کننده‌های رشد درون‌زای گیاهی که در کنترل خواب و رکود گیاه نقش دارند می‌توان به جیبرلین‌ها اشاره نمود. جیبرلین یک نوع تنظیم‌کننده رشد گیاهی می‌باشد که باعث تحریک واکنش‌های فیزیولوژیکی در گیاهان از طریق تاثیر بر فتوسنتز می‌شود (Iqbal *et al.*, 2011). اسید جیبرلیک در برخی از فرایندهای فیزیولوژیکی گیاه وارد شده و موجب اثرات مطلوبی از جمله تحریک تقسیم سلولی، طویل شدن سلول، گل-انگیزی، افزایش ارتفاع ساقه، همزمانی گلدهی و کوتاه کردن دوره گلدهی می‌شود (Brooking and Cohen, 2002). از طرفی، اسید جیبرلیک‌ها با تحریک فعالیت برخی از آنزیم‌های پروتئاز، باعث تبدیل پروتئین‌ها به اسید آمینه‌هایی مانند تریپتوفان می‌شوند که پیش نیاز اکسین است. بنابراین، اسید جیبرلیک‌ها برخی از تأثیرات خود را به طور غیر مستقیم از طریق خصوصیات اکسین نیز اعمال می‌کنند (Salehi *et al.*, 2014). بررسی‌های پیشین نشان داده که اسید جیبرلیک در غلظت ۱۲۵ میلی‌گرم در لیتر سبب برطرف کردن خفتگی و زود جوانه‌زنی در گلایول می‌شود (Bhujbal *et al.*, 2014). همچنین تاثیر دمای پایین و اسید جیبرلیک بر کیفیت گل‌های به دست آمده از سوخ‌های تیمار شده نرگس مشخص کرد که غلظت ۶۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید جیبرلیک تاثیر معنی‌داری بر کیفیت برگ، ساقه و زمان گلدهی آن داشت (Hassanpour Asil *et al.*, 2008). همینطور نتایج تحقیقات قبلی نشان داد که اسید جیبرلیک با غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر موجب تغییراتی مانند افزایش طول سنبله، تعداد گلچه و تاثیر بر برخی صفات رویشی مانند افزایش شمار برگ، طول برگ و عرض برگ در گل مریم شد (Rani and Singh, 2013).

با توجه به اثرات مفید اسید جیبرلیک و پوترسین و با توجه به اینکه سوسن یکی از گیاهان با ارزش شاخه‌بریدنی است که افزایش کیفیت و عمر گلجای آن باعث افزایش بازارپسندی این گل می‌شود، آزمایش حاضر، با هدف مطالعه اثر اسید جیبرلیک و پوترسین بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی گل شاخه بریده سوسن هیبرید OT رقم 'Lesotho' اجرا شد، تا بهترین سطح غلظت به کار گرفته شده و میزان تاثیرگذاری آن در این گل شاخه بریده با ارزش تعیین شود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و تیمارها

این پژوهش در پاییز و زمستان سال ۱۳۹۸ در گلخانه تحقیقاتی دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان انجام شد. پیاز سوسن Oriental×Trumpet رقم 'Lesotho' از شرکت Onings Holland هلند به نمایندگی شرکت ساعی گل تهران تهیه شد و به گلخانه منتقل گردید. بستر کشت حاوی خاک برگ پوسیده، ماسه و پرلیت به

نسبت حجمی ۱:۱:۱ بود که با قارچ‌کش بنومیل با غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر ضدعفونی گردید. در این تحقیق از گلدان‌های ۴ لیتری استفاده شد و برخی از ویژگی‌های مخلوط خاکی مورد آزمایش در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱- برخی از ویژگی‌های مخلوط خاک گلدان مورد آزمایش

Table 1- Some characteristics of tested soil mixture

EC (dS/m)	pH	Calcium (mgL^{-1})	Potassium ($mg.L^{-1}$)	Phosphorus ($mg.L^{-1}$)	Nitrogen (%)
1.8	6.43	528	329	35	0.21

به منظور تهیه غلظت‌های اسید جیبرلیک که شامل صفر (شاهد)، ۱۵۰، ۳۰۰ و ۴۵۰ میلی‌گرم در لیتر بود به ترتیب ۰/۱۵، ۰/۳۰ و ۰/۴۵ گرم اسید جیبرلیک (مرک آلمان) با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین و در چند قطره محلول KOH یک نرمال حل شد (Mashahiri and Hassanpour Asil, 2018). پیازها به صورت غوطه‌وری به مدت ۲۴ ساعت تحت این تیمارها قرار گرفتند. سپس پیازهای تیمار شده، با فاصله ۴ سانتی‌متری نوک پیاز با سطح خاک کشت شدند. این تیمار شامل غلظت‌های صفر (شاهد)، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌مولار پوترسین به وسیله حل کردن ۰/۱۷۶۳ گرم از این ماده در مقدار بسیار کمی اتانول و آب مقطر (۲۰ میلی‌لیتر اتانول+ ۸۰ میلی‌لیتر آب مقطر) آماده شد و به ترتیب به میزان ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی‌لیتر از این محلول با آب مقطر به حجم ۴۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. محلول تهیه شده از مرحله آغاز غنچه‌دهی و هر دو هفته یک بار روی گیاهان مورد نظر اسپری شد و تا زمان شکوفایی اولین غنچه ادامه داشت (Ataii *et al.*, 2017).

برای تامین شرایط دمایی گلخانه از سیستم خنک کننده کولر گازی استفاده شد ولی در دو هفته اولیه کشت پیازها، دما در حد ۱۲ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد تا ریشه‌دهی پیازها صورت گیرد. سپس دمای گلخانه در ۲±۲۰ درجه سانتی‌گراد در طول روز و ۲±۱۸ درجه سانتی‌گراد در طول شب حفظ شد (Nabavi Mohajer *et al.*, 2018). همچنین برای تامین نور مورد نیاز، ۴ عدد لامپ سدیمی فشار قوی ۴۰۰ وات، با شدت ۵۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه در فاصله ۱/۵ متری گیاهان نصب شد که به صورت زمانبندی و به میزان ۱۱ ساعت روشنایی، از ساعت ۷ صبح الی ۱۸ عصر اعمال شد (Nabavi Mohajer *et al.*, 2018). رطوبت نسبی گلخانه ۵±۷۰ درصد بود. آبیاری برای گیاهان به صورت دستی و با مشاهده خشک شدن سطح خاک انجام شد. در دوره رشد رویشی از محلول NPK (۲۰:۲۰:۲۰) جهت تغذیه گیاهان در دو نوبت و با غلظت یک گرم در لیتر و به میزان ۴۰۰ میلی‌لیتر برای هر واحد آزمایشی (گلدان) استفاده گردید (Martin-Tanguy, 2001).

شاخص‌های مورد ارزیابی

صفات مورفولوژیک: اندازه‌گیری صفات در انتهای آزمایش (۶ ماه پس از کشت پیازها) با تکمیل شدن رشد رویشی گیاهان انجام شد. تعداد غنچه‌ها شمارش شده و ارتفاع ساقه گلدهنده به وسیله متر اندازه‌گیری شد. در پایان آزمایش و در زمان رنگ‌گیری کامل غنچه‌ها، شاخه‌ها به ارتفاع ۴۰ سانتی‌متر از زیر دمگل قطع شدند و جهت بررسی باقی صفات، به آزمایشگاه گروه علوم باغبانی منتقل شدند. بعد از توزین با ترازوی دقیق و ثبت وزن اولیه، هر شاخه گل در ارلن‌های ۱ لیتری که حاوی ۸۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر بود قرار گرفت و داخل اتاقک مخصوص که برای این کار طراحی و آماده شده بود قرار گرفت. دمای اتاقک ۲±۱۸ درجه سانتی‌گراد و نور فلورسانت با شدت ۵۰ میکرومول بر متر مربع بر ثانیه تنظیم گردید.

عمر گلجای گل‌های شاخه بریده براساس روش فرناندو و همکاران (۱۹۹۹) اندازه‌گیری شد، بدین منظور گل‌ها روزانه با استفاده از ارزیابی مشاهده‌ای پلاسیدگی گلبرگ‌ها، تغییر رنگ گلبرگ، ریزش گلبرگ، خم شدن گردن گل‌ها و پژمردگی گل‌ها ارزیابی شدند و بر حسب روز بیان شد (Fernando *et al.*, 1999).

صفات فیزیولوژیک: جهت اندازه‌گیری محتوای آبی ساقه گلدهنده بعد از پایان عمر گلجای، ابتدا ساقه‌های گلدهنده توسط ترازوی دقیق دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین شده و سپس به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و سپس وزن خشک آن‌ها اندازه‌گیری شد و در نتیجه محتوای آبی ساقه گلدهنده توسط رابطه زیر بیان شد (Otsubo and Iwaya-Inole, 2000).

رابطه (۱) $[m_w-m_d/m_w]$ =محتوای آبی ساقه گلدهنده

m_w = وزن تر نمونه گیاهی و m_d= وزن خشک نمونه گیاهی

به منظور سنجش درصد پایداری غشاء سلولی یک گرم گلبرگ قطعه قطعه شده به همراه ۱۰ میلی لیتر آب مقطر درون لوله آزمایش ریخته شده و نمونه‌ها به مدت ۱ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد بن‌ماری قرار گرفتند و پس از خروج نمونه‌ها میزان EC_1 قرائت شد و سپس نمونه‌ها درون اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۲ اتمسفر به مدت ۲۰ دقیقه قرار گرفتند و پس از خروج مجدداً EC_2 قرائت شد و در نهایت برای محاسبه از رابطه زیر استفاده گردید (Singh *et al.*, 2008):

$[1-(EC_1/EC_2)]\times100$ = (درصد) شاخص پایداری غشاء سلول

رابطه (۲)

به منظور محاسبه وزن تر نسبی گل شاخه بریده ابتدا وزن اولیه (روز صفر) هر شاخه گل به وسیله ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شد. پس از آن وزن گل‌ها در روزهای سوم، پنجم و هفتم اندازه‌گیری شد و در نتیجه وزن تر نسبی توسط رابطه زیر بیان شد (Chamani *et al.*, 2012).

رابطه (۳) $[(W_n/W_0)]\times100$ =وزن تر نسبی

W_n: وزن تر در روزهای مورد نظر

میزان جذب آب توسط گل شاخه بریده در روزهای سوم، پنج و هفتم ثبت و در نهایت با استفاده از رابطه زیر محاسبه و بر حسب میلی‌لیتر بر گرم وزن‌تر بیان شد (Chamani *et al.*, 2012).

رابطه (۴) $(S_{t-1}-S_t)/W_{t=0}$ = میزان جذب آب

S_t=وزن آب در روزهای ۳، ۵ و ۷ ، S_{t-1}=وزن آب در روز قبل و $W_{t=0}$=وزن تر شاخه گل در روز صفر

صفات بیوشیمیایی: برای سنجش میزان کلروفیل‌های a، b و کل و کاروتنوئید نیز، از روش لیچتنتالر (Lichtenthaler) استفاده شد و غلظت رنگیزه‌های برگ و گلبرگ از رابطه‌های زیر بر حسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره گیاهی تعیین و سپس نتایج بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر بافت نمونه محاسبه و ارائه گردید (Lichtenthaler, 1987).

رابطه (۵) $Chl.a=12.5A_{663.2}-2.79\ A_{646.8}$

رابطه (۶) $Chl.b=21.5A_{646.8}-5.1A_{663.2}$

رابطه (۷) $TChl= Chl.a+ Chl.b$

رابطه (۸) $Car= (1000A_{470}-1.8\ chl.a-85.2\ chl.b)/198$

$A_{663.2}$= مقدار جذب نور در طول موج nm ۶۶۳/۲

$A_{646.8}$= مقدار جذب نور در طول موج nm ۶۴۶/۸

A_{470}= مقدار جذب نور در طول موج nm ۴۷۰

اندازه‌گیری مواد جامد محلول کل گلبرگ در روزهای ۱، ۳ و۶ (به ترتیب TSS_1، TSS_2، TSS_3) به وسیله دستگاه رفراکتومتر (DRC 200) انجام شد. در این روش قطعاتی از گلبرگ هر نمونه تهیه شده و قطره‌ای از عصاره آن بر روی منشور دستگاه قرار گرفت و عدد مربوطه جهت تعیین میزان مواد جامد محلول گلبرگ که بر حسب درصد بیان می‌شود، قرائت شد (Taheri-Shiva *et al.*, 2014).

تجزیه و تحلیل آماری: آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملا تصادفی که شامل ۱۶ تیمار با ۳ تکرار و هر تکرار شامل ۲ گلدان که در مجموع ۹۶ گلدان (واحد آزمایشی) بود اجرا شد. تجزیه واریانس با نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین با آزمون LSD در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

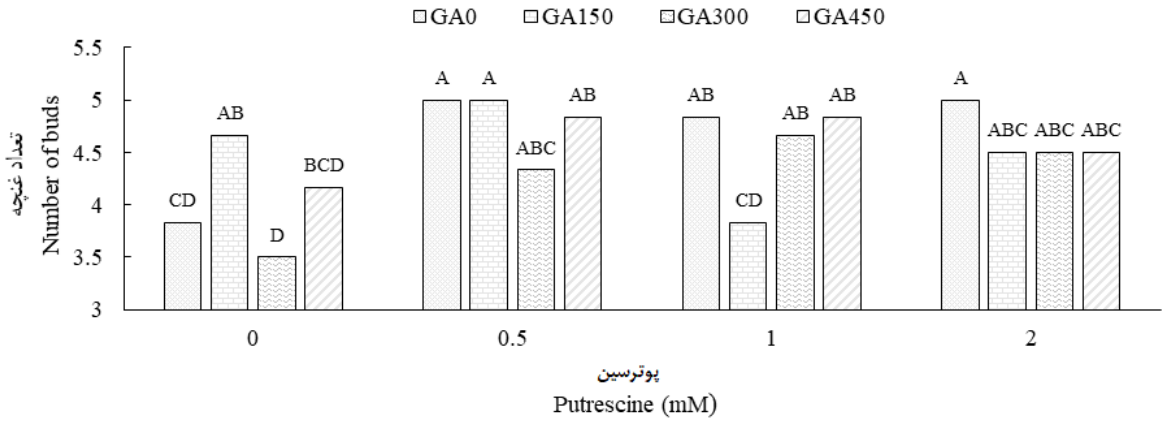
صفات مورفولوژیک

تعداد غنچه

بررسی نتایج نشان داد که اثر متقابل اسید جیبرلیک و پوترسین در سطح احتمال ۱ درصد باعث اختلاف معنی‌داری در تعداد غنچه شد. همچنین بررسی مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۱) نشان داد کاربرد پوترسین در تمام سطوح باعث افزایش تعداد غنچه‌ها شد اما از طرفی دیگر کابرد اسید جیبرلیک در سطح ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر از این افزایش جلوگیری نمود به گونه‌ای که کمترین میزان تعداد غنچه متعلق به تیمارهای ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید جیبرلیک و سطح شاهد پوترسین بود. در نتایج تحقیقات گذشته گزارش شده است که کاربرد برگی پوترسین، ویژگی‌های رویشی و زایشی گل شاخه بریده گلایول از جمله ارتفاع گل آذین، شمار گلچه‌ها، محتوای سبزینه و کاروتنوئید را بهبود بخشید (Nahed *et al.*, 2009). همچنین نتایج تحقیقات گذشته نیز نشان داد که انتقال پلی‌آمین‌ها از برگ به جوانه‌های انتهایی و جانبی، حاکی از آنست که این ترکیبات به عنوان بخشی از مکانیسم سیگنال‌های گلدهی و تبدیل جوانه‌های رویشی به زایشی عمل می‌کنند (Esna-ashari and Zokaee khosroshahi, 2008). از این رو به نظر می‌رسد علت موثر بودن پلی‌آمین پوترسین و افزایش بیشتر بیوسنتز آن در گیاه در نتیجه کاربرد خارجی پوترسین باشد.

طول ساقه گلدهنده

بر اساس نتایج به دست آمده، کاربرد اسید جیبرلیک باعث ایجاد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد نسبت به شاهد شد. همچنین با بررسی مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۲) مشخص می‌شود کاربرد اسید جیبرلیک در تمام سطوح مورد استفاده در آزمایش باعث افزایش طول ساقه گلدهنده گردید و بیشترین طول ساقه گلدهنده (۹۹/۷۵ سانتی‌متر) مربوط به غلظت ۴۵۰ میلی‌گرم در لیتر بود. در حالی که کمترین طول ساقه گلدهنده با اختلاف ۷ سانتی‌متر مربوط به شاهد بود. نتایج تحقیقات گذشته نیز نشان داد که اسید جیبرلیک در غلظت‌های مختلف سبب تسریع رشد، بهبود عملکرد و افزایش ارتفاع گیاه در گلایول شد (Sarkar *et al.*, 2014). ضمناً نقش مثبت جیبرلین‌ها در جوانه‌زنی و توسعه برگ، ساقه و گل در مطالعات قبلی شناخته شده است (Yamaguchi, 2008). همچنین جیبرلین‌ها در افزایش تقسیم و طویل شدن سلول‌ها نقش دارند و از این رو باعث افزایش رشد گیاهان می‌شوند (Iqbal *et al.*, 2011).



شکل ۱- اثر متقابل غلظت‌های مختلف اسید جیبرلیک× پوترسین بر تعداد غنچه گل سوسن رقم 'لزوتو'

Figure 1- Interaction effects of different concentrations of gibberellic acid×putrescine on number of buds of Lilium cv. 'Lesotho' (LSD, $p \leq 0.05$)

جدول ۲- اثرات ساده اسید جیبرلیک و پوترسین بر صفات مورفولوژیک گل شاخه بریده گل سوسن رقم 'لزوتو'

Table 2– The simple effects of gibberellic acid and putrescine treatments on morphological traits of Lilium cv. 'Lesotho'

تیمارها Treatments	غلظت‌ها Concentrations	تعداد غنچه Number of buds	طول ساقه گلدهنده Flower stem length (cm)	عمر گلجای Vase life
اسید جیبرلیک Gibberellic acid (mg.L^{-1})	0	a	92.92 b	9.83 b
	150	a	98.75 a	10.17 b
	300	a	97.25 a	11.58 a
	450	a	99.75 a	10.17 b
پوترسین Putrescine (mM)	0	4.04 b	A	9.33 c
	0.5	4.79 a	A	10.67 ab
	1	4.54 a	A	10.17 bc
	2	4.62 a	A	11.58 a

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر صفت، در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از آزمون LSD دارای تفاوت معنی داری نیستند.

Means with the same letters are not significantly different at 5% of probability level using LSD test.

عمر گلجای

نتایج نشان داد که اثر اصلی اسید جیبرلیک در سطح احتمال ۵ درصد و اثر اصلی پوترسین در سطح احتمال ۱ درصد بر عمر گلجای گل شاخه بریده سوسن تاثیر معنی‌داری داشت. نتایج مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۲) نشان داد با کاربرد اسید جیبرلیک در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر و پوترسین در غلظت ۲ میلی‌مولار عمر گلجای افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد نشان داد. بیشترین عمر گلجای (۱۵ روز) را تیمار ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید جیبرلیک و ۲ میلی‌مولار پوترسین نشان داد. در پیازهای تیمار شده با اسید جیبرلیک، به دلیل جوانه زنی سریع و در دسترس بودن منابع ذخیره‌ای (به دلیل هیدرولیز ذخایر هیدروکربنی توسط اسید جیبرلیک) توسعه گل بهتر صورت گرفت و مواد فتوسنتزی بیشتری جذب گل گردید. از آنجا که رقابت برای جذب مواد در بین اندام‌ها وجود دارد، گل‌ها در این رقابت موفق‌تر عمل نموده و همین امر سبب افزایش و بالا رفتن کیفیت گل می‌شود. اسید جیبرلیک که باعث اسیدی کردن شیره سلولی می‌گردد مانع از تجزیه پروتئین‌ها و تجمع آمونیوم در حاشیه گلبرگ‌ها شده و با این عمل پیری را به تاخیر انداخت (Mojtahedi and Lesani, 1985). همچنین اسید جیبرلیک پیک تنفسی گیاه را به تاخیر انداخت و ماندگاری گل را افزایش داد (Hassanpour *et al.*, 2008). اسید جیبرلیک به دلیل نقش ساختاری در غشاء کلروپلاست، می‌تواند تجزیه و از بین رفتن کلروفیل را طی فرایند پیری کاهش دهد (Mojtahedi and Lesani, 1985). همینطور نتایج بررسی‌های گذشته نشان داد استفاده از پلی آمین‌ها پیش از برداشت باعث افزایش عمر گلجای در گل رز شاخه بریدنی رقم رد برلین شده است که با نتایج حاضر همخوانی دارد (Rubinowska *et al.*, 2012). پلی‌آمین‌ها می‌توانند پیری را به وسیله جلوگیری از تولید اتیلن به تاخیر اندازند و همچنین با جلوگیری از پراکسیداسیون چربی‌ها اثر خود را به عنوان مسئول ضد پیری اعمال کنند (Borrell *et al.*, 1997).

صفات فیزیولوژیک

محتوای آبی ساقه گلدهنده

در اندازه‌گیری میزان محتوای آبی ساقه گلدهنده مشاهده شد اثرات ساده اسید جیبرلیک و پوترسین در سطح احتمال ۱ درصد در میزان محتوای آبی ساقه گلدهنده تاثیر معنی‌داری داشتند. همچنین بررسی نتیجه مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۳) نشان داد که در کاربرد اسید جیبرلیک و پوترسین، غلظت‌های اسید جیبرلیک در سطح ۴۵۰ میلی‌گرم در لیتر باعث افزایش و تیمار پوترسین در سطح ۲ میلی‌مولار سبب کاهش محتوای آبی ساقه شد اما هیچ تفاوت معنا داری بین باقی سطوح در هر دو تیمار مشاهده نشد. بیشترین محتوای آبی ساقه گلدهنده (۰/۸۱) مربوط به غلظت ۴۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسید جیبرلیک است. افزایش قندهای احیاء شده در ساقه گلدهنده باعث افزایش پتانسیل اسمزی شده و توانایی آن‌ها را در جذب آب و در نتیجه حفظ آماس سلولی افزایش داد و باعث افزایش محتوای آبی گل و تاخیر در پلاسیده شدن گلبرگ و نیز کاهش درصد نشت یونی سلول‌ها گردید (Emongor, 2004). همچنین افزایش محتوای نسبی آب در گیاه توسط پوترسین می‌تواند به دلیل پلی‌آمین‌ها باشد که سبب افزایش نفوذپذیری غشاء نسبت به کلسیم شده و میزان آن را در گیاه افزایش می‌دهند. ضمناً این افزایش کلسیم باعث غیرفعال‌کردن ورود یک سویه پتاسیم از غشاء شده و همین امر سبب تحریک بسته‌شدن روزنه‌ها و در پی آن کاهش از دست رفتن آب گیاه می‌شود و در نتیجه محتوای نسبی آب گیاه افزایش می‌یابد (Rubinowska *et al.*, 2012).

جدول ۳- اثرات ساده اسید جیبرلیک و پوترسین بر صفات فیزیولوژیک گل سوسن رقم 'لزوتو'

Table 3- The simple effects of gibberellic acid and putrescine treatments on physiological traits of Lilium cv. 'Lesotho'

تیمارها Treatments	غلظت‌ها Concentrations	محتوای آبی ساقه گلدهنده Flower stem water content	وزن تر گل شاخه بریده Cut flower fresh weight (g)	پایداری غشاء سلولیگلبرگ Cell membrane stability or petal (%)	وزن تر نسبی گل شاخه بریده Relative fresh weight of cut flower (%)			میزان جذب آب گل شاخه بریده Relative water uptake of cut flower ($ml.g^{-1}$ FW)		
					روز سوم 3rd day	روز پنجم 5th day	روز هفتم 7th day	روز سوم 3rd day	روز پنجم 5th day	روز هفتم 7th day
اسید جیبرلیک Gibberellic acid ($mg.L^{-1}$)	0	0.79 b	131.42 b	69.73 b	85.77 b	82.90 b	73.86 c	1.80 c	1.05 c	0.92 c
	150	0.79 b	141.67 ab	75.13 a	89.37 b	93.41 a	81.94 ab	1.83 bc	1.11 bc	1.17 b
	300	0.80 b	133.17 b	71.68 ab	91.79 ab	87.82 ab	77.51 bc	2.01 a	1.26 ab	1.32 b
	450	0.81 a	144.42 a	72.93 ab	97.19 a	95.71 a	85.29 a	1.99 ab	1.38 a	1.92 a
پوترسین Putrescine (mM)	0	0.78 b	122.0 b	70.01 b	83.16 b	80.96 b	72.47 c	1.28 d	0.95 c	1.09 b
	0.5	0.79 a	141.83 a	70.62 b	91.62 a	83.33 b	76.27 bc	1.69 c	1.12 b	1.35 a
	1	0.80 a	141.67 a	73.13 ab	92.99 a	94.98 a	82.46 ab	2.18 b	1.34 a	1.46 a
	2	0.80 a	145.47 a	75.71 a	96.37 a	100.58 a	87.41 a	2.47 a	1.38 a	1.43 a

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر صفت، در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از آزمون LSD دارای تفاوت معنی داری نیستند.

Means with the same letters are not significantly different at 5% of probability level using LSD test

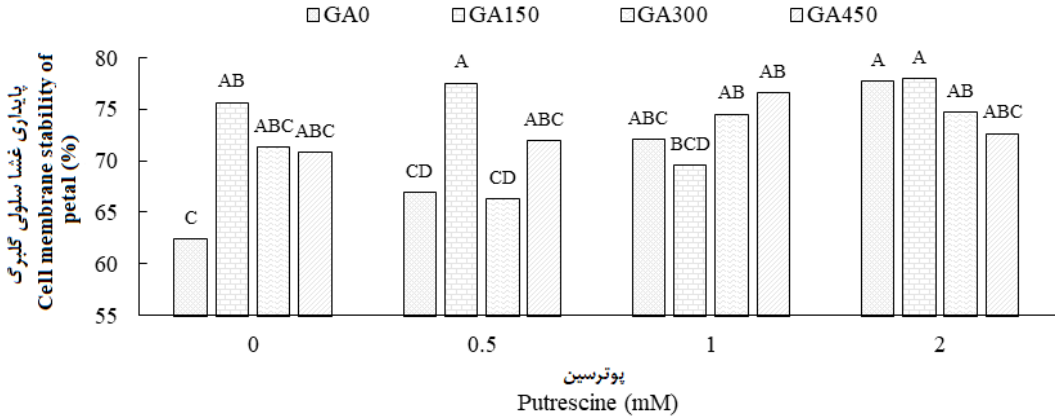
وزن‌تر گل شاخه بریده

بررسی نتایج نشان داد که اثر متقابل اسید جیبرلیک و پوترسین تاثیر معنی‌داری بر وزن‌تر گل شاخه بریده نداشت اما اثر اصلی پوترسین در سطح احتمالی ۱ درصد و اثر اصلی اسید جیبرلیک در سطح احتمالی ۵ درصد تاثیر معنی‌داری روی این صفت داشت. بررسی مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۳) نشان داد تیمار اسید جیبرلیک در تمامی سطوح باعث افزایش میزان وزن تر گل شاخه بریده گردید به‌طوری که بیشترین تاثیر (با ۱۳ گرم اختلاف میانگین نسبت به شاهد) متعلق به سطح تیمار ۴۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسید جیبرلیک بود. همچنین بررسی مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۳) نشان داد تمام سطوح پوترسین باعث افزایش وزن‌تر گل شاخه بریده نسبت به شاهد شد، به گونه ای که کمترین میزان وزن‌تر گل شاخه بریده (۱۲۲ گرم) متعلق به سطح صفر پوترسین و بیشترین میزان وزن‌تر گل شاخه بریده (۱۴۵ گرم) متعلق به سطح تیمار ۲ میلی‌مولار پوترسین

می‌باشد. گزارش شده است که افزایش وزن تر گیاه ممکن است به علت تجمع ترکیبات متعددی باشد که نقش مثبتی را در تشکیل و تقسیم شدن سلول‌ها ایفا کرده و منجر به افزایش وزن‌تر گیاهان می‌شوند (El-Nagar *et al.*, 2009). نتایج حاضر با نتایج محققان در بررسی اسید جیبرلیک بر گل مریم (Chang *et al.*, 2006) و گل میخک (Ramesh *et al.*, 2002) همخوانی دارد. همچنین این نتایج با بررسی تحقیقات گذشته که عنوان کردند تیمار پلی‌آمین‌ها در گل شاخه بریده رز منجر به افزایش وزن‌تر می‌شود مطابقت داشته است (Farahi *et al.*, 2013). دلایل این نتایج را می‌توان دخالت داشتن پلی‌آمین‌ها در دامنه وسیعی از فرایندهای بیولوژیکی از قبیل رشد و نمو، تقسیم سلولی و تمایزیابی عنوان نمود (Dastyari and Hoseini Fari, 2014).

پایداری غشاء سلولی گلبرگ

نتایج نشان داد که اثر متقابل اسید جیبرلیک و پوترسین در سطح احتمالی ۵ درصد باعث ایجاد اختلاف معنی‌دار در درصد پایداری غشاء سلولی گلبرگ شده است. همچنین مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۲) نشان داد استفاده از اسید جیبرلیک و پوترسین به صورت توام در سطوح پایین‌تر باعث افزایش پایداری غشاء سلولی گلبرگ نسبت به شاهد شد. غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسید جیبرلیک و ۲ میلی‌مولار پوترسین بیشترین میزان میانگین درصد پایداری غشاء را داشت. نتایج تحقیقات گذشته نشان داد که جیبرلیک فعالیت پروتئاز را کاهش می‌دهد و از این طریق از تجزیه پروتئین‌ها جلوگیری می‌کند. به علاوه موجب جلوگیری از افزایش pH سلولی، حفظ سیالیت غشای سلول و جلوگیری از نشت یون‌ها و در کل به تاخیر انداختن پیری می‌گردد که با نتایج حاضر مطابقت دارد (Eason, 2002). همچنین پلی‌آمین‌ها می‌توانند مقاومت غشاء سلولی را به وسیله حذف رادیکال‌های آزاد و حفظ غشاءهای یاخته‌ای در برابر اکسید شدن افزایش دهند. تیمار پلی‌آمین می‌تواند باعث افزایش سطح پلی‌آمین‌های درونی و در نتیجه پایداری غشا شود که با نتایج این تحقیق همسو می‌باشد (Liu *et al.*, 2007).



شکل ۲- اثر متقابل غلظت‌های مختلف اسید جیبرلیک× پوترسین بر پایداری غشاء سلولی گلبرگ در گل سوسن رقم 'لزوتو'

Figure 2- The iteraction effect of different concentrations of gibberellic acid×putrescine on cell membrane stability of petal in Lilium cv. 'Lesotho' (LSD, p≤0.05)

وزن تر نسبی گل شاخه بریده

با ارزیابی وزن‌تر نسبی گل شاخه بریده اثر اصلی پوترسین موجب اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۱ درصد در روزهای سوم، پنجم و هفتم شد. همینطور بررسی مقایسات میانگین داده‌ها (جدول ۳) نشان داد که تاثیر تمام سطوح تیماری اسید جیبرلیک و پوترسین بر وزن‌تر نسبی گل شاخه بریده باعث افزایش میزان این صفت شد. بیشترین میزان داده در این صفت برای روزهای سوم، پنجم و هفتم به ترتیب ۱۰۷/۱۹۷، ۱۱۰/۷۸۷ و ۱۰۳/۸۰۲ درصد مربوط به سطح تیماری ۴۵۰ میلی‌گرم در لیتر و ۲ میلی‌مولار پوترسین بود در حالی که کمترین داده ۵۹/۲۹۱، ۳۳/۰۹۷ و ۵۰/۹۸۶ درصد مربوط به شاهد بود. بررسی‌ها نشان داده که جیبرلین‌ها با هیدرولیز کربوهیدرات‌های پیچیده به قندهای ساده موجب ایجاد پتانسیل آب منفی در سلول‌ها می‌گردند. در نتیجه این پتانسیل منفی، آب بیشتری وارد سلول می‌شود که موجب انبساط سلولی شده و محتوای آب سلول را افزایش می‌دهد. بنابراین جیبرلین‌ها موجب جذب آب بیشتر و در نتیجه افزایش وزن تر نسبی گل‌های شاخه بریدنی سوسن شد (Mutui *et al.*, 2003; Mutui *et al.*, 2006). نتایج تحقیقات گذشته نیز نشان داد کاربرد ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر پوترسین در گل‌های گلایول سبب افزایش وزن تر شد و به دنبال آن سبب تورژسانس، شادابی و ماندگاری بیشتر گلبرگ‌ها در گیاه گردید که با نتایج حاضر همخوانی

دارد (Nahed *et al.*, 2009).

میزان جذب آب گل شاخه بریده

نتایج نشان داد که اثر اصلی اسید جیبرلیک در سطح احتمالی ۵ درصد و اثر اصلی پوترسین در سطح احتمال ۱ درصد باعث ایجاد اختلاف معنی‌دار در میزان جذب آب گل شاخه بریده در روزهای سوم، پنجم و هفتم شد. همچنین بررسی مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۳) نشان داد که استفاده از اسید جیبرلیک و پوترسین در تمامی سطوح باعث افزایش میزان جذب آب گردید. بیشترین تاثیر و میزان (۲/۴۷ میلی‌لیتر بر گرم وزن‌تر نمونه) در روز سوم برداشت متعلق به بالاترین سطوح در هر دو تیمار بود. همانطور که اشاره شد جیبرلین‌ها با هیدرولیز کربوهیدرات‌های پیچیده به قندهای ساده موجب ایجاد پتانسیل آب منفی در سلول‌ها می‌گردند که افزایش جذب آب را در پی دارند. نتایج این پژوهش نیز نشان داد که غلظت‌های مختلف اسید جیبرلیک میانگین میزان جذب آب را بهبود دادند (Mutui *et al.*, 20062003 ;Mutui *et al.*, 2). همچنین این اثر می‌تواند به دلیل تقویت روابط آبی، جلوگیری از انسداد عروق ناشی از اثر ضد میکروبی و اثر ضد اتیلنی پوترسین باشد که باعث کاهش سرعت تنفس گل‌های شاخه بریده و درصد ماده خشک گردید (Mohammadi *et al.*, 2014).

کلروفیل برگ

نتایج نشان داد اثرات اصلی اسید جیبرلیک و پوترسین در سطح احتمال ۱ درصد باعث ایجاد اختلاف معنی‌دار در میزان کلروفیل‌های a، b و کل برگ شدند. همچنین نتایج مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۴) نشان داد که استفاده از اسید جیبرلیک و پوترسین در تمامی سطوح باعث افزایش میزان کلروفیل a، b و کل برگ نسبت به شاهد گردید. اما فقط میزان کلروفیل‌های a، b و کل در سطوح ۱۵۰ و ۴۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسید جیبرلیک و غلظت‌های ۱ و ۲ میلی‌مولار پوترسین در تمام موارد تفاوت معنی‌داری نسبت به شاهد داشتند. بیشترین میزان کلروفیل کل (۰/۵۱۴ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر نمونه) متعلق به تیمار ۲ میلی‌مولار پوترسین و ۴۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسید جیبرلیک و کمترین میزان کلروفیل کل (۰/۰۸۵ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر نمونه) متعلق به شاهد بود. این نتایج حاکی از آن است که اسید جیبرلیک با جلوگیری از تحلیل کلروفیل باعث کاهش روند پیری در برگ می‌شود. این نتیجه به دلیل نقش ساختاری جیبرلین در غشاء کلروپلاست و تحریک فتوسنتز است که به وسیله کاهش pH باعث حفظ پروتئین و غشاء یاخته‌ای می‌شود و در نتیجه باعث ماندگاری برگ و متعاقبا ماندگاری گل می‌گردد (Skutnik *et al.*, 2001). همچنین اسید جیبرلیک با حفظ سطح نیتروژن برگ سبب حفظ سبزینه برگ‌ها و به تاخیر انداختن پیری می‌شود (Mutui, 2001).

صفات بیوشیمیایی

جدول ۴- اثرات ساده اسید جیبرلیک و پوترسین بر صفات بیوشیمیایی گل سوسن رقم 'لزوتو'

Table 4- The ef simple fects of gibberellic acid and putrescine treatments on biochemical traits of Lilium cv. 'Lesotho'

تیمارها Treatments	غلظت‌ها Concentrations	کلروفیل a Chlorophyll a (mg.g^{-1} FW)	کلروفیل b Chlorophyll b (mg.g^{-1} FW)	کلروفیل کل برگ Total leaf chlorophyll (mg.g^{-1} FW)	کاروتنوئید گلبرگ Petal carotenoid (mg.g^{-1} FW)	مواد جامد محلول کل TSS (%) روز اول TSS_1	روز سوم TSS_2	روز ششم TSS_3
اسید جیبرلیک Gibberellic acid (mg.L^{-1})	0	0.15 c	0.07 c	0.22 c	0.033 c	a	a	a
	150	0.21 b	0.08 bc	0.29 b	0.042 b	a	a	a
	300	0.23 b	0.09 ab	0.32 b	0.041 b	a	a	a
	450	0.29 a	0.10 a	0.39 a	0.052 a	a	a	a
پوترسین Putrescine (mM)	0	0.15 d	0.07 b	0.21 d	0.031 b	6.58 b	5.50 c	4.64 c
	0.5	0.18 c	0.09 a	0.27 c	0.036 b	6.88 ab	6.62 b	6.38 b
	1	0.26 b	0.07 b	0.33 b	0.050 a	7.49 a	7.85 a	7.42 a
	2	0.30 a	0.10 a	0.41 a	0.051 a	6.72 b	6.88 b	7.00a b

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر صفت، در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از آزمون LSD دارای تفاوت معنی داری نیستند.

Means with the same letters are not significantly different at 5% of probability level using LSD test.

پلی‌آمین‌ها نیز در سنتز پروتئین‌ها و متابولیسم ترکیب‌های نیتروژن نقش دارند و گزارش‌هایی در مورد افزایش محتوای سبزینه،

رشد رویشی، فعالیت نورساختی و کنترل پیری برگ در گیاهان به وسیله پلی‌آمین‌ها وجود دارد که با نتایج حاضر همخوانی دارد (Liu *et al.*, 2007).

کاروتنوئید گلبرگ

اثرات اصلی اسید جیبرلیک در سطح احتمالی ۵ درصد و پوترسین در سطح احتمال ۱ درصد باعث ایجاد اختلاف معنی‌دار در میزان کاروتنوئید گلبرگ شدند. همچنین بررسی مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۴) نشان داد که استفاده از اسید جیبرلیک و پوترسین در تمامی سطوح باعث افزایش میزان کاروتنوئید نسبت به شاهد گردید. همینطور در بین سطوح مورد استفاده غلظت ۴۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسید جیبرلیک و ۲ میلی‌مولار پوترسین بیشترین تاثیر را در کاروتنوئید گلبرگ داشتند. اما بین غلظت‌های ۱و ۲ میلی‌مولار پوترسین اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. مطالعات انجام شده در زمینه تنظیم کننده‌های رشد مانند GA_3 نشان داد که استفاده از آن‌ها می‌تواند باعث افزایش میزان رنگدانه‌های غالب مانند کاروتنوئیدها شود که با نتایج حاضر همسو می‌باشد (Salehi *et al.*, 2014). همچنین بررسی‌های گذشته نشان داد که ویژگی‌های رویشی و زایشی گلایول به وسیله استفاده از پوترسین بهبود یافت و همینطور غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر پوترسین به علاوه تیامین و اسید آسکوربیک باعث افزایش میزان کاروتنوئید گلبرگ نسبت به سطوح شاهد شده است (Nahed *et al.*, 2009).

مواد جامد محلول کل

در اندازه گیری مواد جامد محلول کل اثر اصلی پوترسین در سطح احتمال ۵ درصد موجب اختلاف معنی‌داری در میزان این صفت در روز اول شد. همینطور در میزان مواد جامد محلول روزهای سوم و ششم اثر اصلی پوترسین در سطح احتمال ۱ درصد باعث ایجاد اختلاف معنی‌دار گردید. با توجه به مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۴) مشاهده گردید که میزان مواد جامد محلول کل مورد بررسی در روزهای ۱، ۳ و۶ با کاربرد پوترسین به ترتیب به میزان ۷/۴۹ ، ۷/۸۵ و ۷/۴۲ ٪ در سطح ۱ میلی‌مولار افزایش یافت ولی این میزان در سطح تیماری ۲ میلی‌مولار مجداد کاهش نشان داد و میزان مواد جامد محلول کل کمتر شد. از طرفی استفاده از پوترسین در سطح ۲ میلی‌مولار باعث جلوگیری از کاهش میزان مواد جامد محلول کل طی گذشت زمان شد. درحالی که در شاهد این میزان با گذشت روزهای ۱، ۳ و ۶ با کاهش مواجه گردید. پلی‌آمین‌ها در سنتز قندها و کربوهیدرات‌ها نقش مؤثری دارند. گزارش شده که آن‌ها در گیاهان همچون تنظیم کننده رشد عمل می‌کنند و ممکن است در برخی فرایندهای بیولوژیک دخالت داشته باشند که مرتبط با بیوستز کربوهیدرات‌ها است که با نتایج حاضر همسو می‌باشد (Mahgoub *et al.*, 2011).

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به دست آمده در این پژوهش، کاربرد اسید جیبرلیک و پوترسین بر بیشتر شاخص‌های گلدهی و عمرگلجای گل سوسن هیبرید 'لزوتو' تاثیر مثبتی داشت. کاربرد اسید جیبرلیک و پوترسین به صورت توام باعث افزایش تعداد غنچه‌ها و بهبود میزان درصد پایداری غشاء سلولی گشت. همچنین کاربرد اسید جیبرلیک باعث افزایش طول ساقه گلدهنده شد. استفاده از پوترسین و اسید جیبرلیک باعث بهبود شرایط گلجای گل شاخه بریده سوسن به وسیله افزایش میزان جذب آب و در پی آن افزایش وزن‌تر نسبی و در نتیجه افزایش تعداد روز عمر گلجای شد. غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسید جیبرلیک و ۲ میلی‌مولار پوترسین بیشترین میزان کلروفیل‌های برگ را در پی داشتند. کاربرد اسید جیبرلیک و پوترسین در تمام سطوح باعث افزایش میزان کاروتنوئید شد. همچنین استفاده از پوترسین سبب افزایش میزان کل مواد جامد محلول گردید. در نهایت با در نظر گرفتن نتایج این تحقیق غلظت‌های ۳۰۰ پی‌پی‌ام جیبرلیک اسید و ۲ میلی‌مولار پوترسین به عنوان بهترین نتایج عملکرد، جهت مصرف به تولیدکنندگان گل شاخه بریده سوسن رقم 'لزوتو' توصیه می‌شود.

منابع

1. Abd-Allah A.A.A., Darwish M.A., Helme S.S., Khenizy S.A., and Alm-Eldeen R.E. 2013. Response of Asiatic hybrid lily Orange Tycoon cut flowering stems to some pulsing and holding solutions, storage temperature and their interactions. Journal of Horticulture Science Ornaments Plant 5(3): 202-217.
2. Akbarian M.M., Heidari Sharifabad H., Noormohammadi G., and Darvish Kojouri F. 2012. The effect of potassium, zinc and iron foliar application on the production of saffron (*Crocus sativa*). Annals of Biological Research 3(12): 5651-5958.
3. Ataii D., Naderi R., and Khandan-Mirkohi A. 2017. Impact of preharvest putrescine treatment on quantitative, qualitative traits and postharvest vase life of Lisianthus (*Eustoma grandiflorum* cv. Miarichi Grand white) cut flowers. Iranian Journal of Horticultural Sciences 48(2): 229-242. (In Persian with English abstract)
4. Banba H. 1968. Pigments of lily flowers. II Survey of carotenoid. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science 37(4): 368-378.
5. Benschop M., le Nard M., Okubo H., and De Hertogh A. 2010. The global flower bulb industry: Production,

utilization, research. Horticultural Reviews 36:1–115
6. Bhujbal G.B., Chavan N.G., and Mehetre S.S. 2014. Importance of growth regulators and cold storage treatments for breaking of gladiolus (*Gladiolus grandiflorus* L.) corm dormancy. The Bioscan 9(2): 501-505.
7. Borrell A., Carbonell L., Farras R., Puig-Parellada P., and Tiburcio A.F. 1997. Polyamines inhibit lipid peroxidation in senescing oat leaves. Physiologia Plantarum 99(3): 385-390.
8. Brooking I.R., and Cohen D. 2002. Gibberellin-induced flowering in small tubers of Zantedeschia 'Black Magic'. Scientia Horticulturae 95(1-2): 63-73.
9. Chamani E., Esmaeilpour B., Poorbeirami H.Y., Maleki L.H., and Saadati, A. 2012. Investigation the effects of thidiazouron and humic acid on postharvest life of cut *Alstroemeria aurantiflia* cv. 'Konyambe'. Journal of Horticultural Science and Technology 26(2): 147-152. (In Persian with English abstract)
10. Chang S., Tsang C., and Wen S. 2006. Gibberellins in relation to flowering in *Polianthes tuberosa*. Physiology Plant 112(6): 429-432.
11. Dastyari M., and Hoseini Fari M. 2014. Effect of humic acid and putrescine on vegetative characteristics and vase life of rose. Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture 5(20): 241-250. (In Persian with English abstract)
12. Eason J.R. 2002. *Sandersonia aurantica*: An evaluation of postharvest pulsing solution to maximize cut flower quality. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science 30: 273-279.
13. El-Nagar A.H., El-Naggar A.A.M., and Naglaa M.I. 2009. Effect of phosphorus application and gibberellic acid on the growth and flower quality of *Dianthus caryophyllus* L. American-Eurasian Journal of Agriculture and Environment Science 6(4): 400-410.
14. Emongor V.E. 2004. Effect of Gibberellic acid on postharvest quality and vase life of Gerbera cut flowers (*Gerbera jamesonii*). Journal of Agronomy 3: 191-195.
15. Esna–ashari M., and Zokaee khosroshahi M. 2008. Polyamines and Horticultural Science. Publication of Bu-ali Sina University. Hamedan.
16. Farahi M.H., Khalighi A., Kholdbarin B., Akbar-boojar M.M., and Eshghi S. 2013. Morphological responses and vase life of *Rosa hybrida* cv. dolcvitato polyamines spray in hydroponic system. World Applied Sciences Journal 21: 1681-1686.
17. Fernando F., Campanha M.M., Barbosa J.G., and Paulo Fonts C.R. 1999. Influence of ethephon silver thiosulfate and sucrose pulsing bird of paradise vase life. Revista Braslieria de Fisiologia Vegetal 11:119-122.
18. Flora Holland. 2020. Anuual report. from www.royalfloraholland.com.
19. Gill S.S., and Tuteja N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. Plant Physiology and Biochemistry 48: 909-930.
20. Hassanpour Asil M., Roein Z., and Rabiei B. 2008. Effects of low temperature and GA_3 on quality of cut flowers of *Narcissus jonquilla, German*. Iranian Journal of Horticultural Science and Technology 9(2): 129-138. (In Persian with English abstract)
21. Iqbal N., Nazar R., Khan M.I.R., Masood A., and Khan N.A. 2011. Role of gibberellins in regulation of source–sink relations under optimal and limiting environmental conditions. Current Science 100(7): 998-1007.
22. Kandil M.M., El-Saady M.B., Mona H.M., Afaf M.H., and Iman M.E. 2011. Effect of putrescine and uniconazole treatments on flower characters and photosynthetic pigments of *Chrysanthemum indicum* L. plant. The Journal of American Science 7(3): 399-408.
23. Lichtenthaler H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. In Methods in Enzymology 148: 350-382.
24. Liu J.H., Kitashiba H., Wang J., Ban Y., and Moriguchi T. 2007. Polyamines and their ability to provide environmental stress tolerance to plants. Plant Biotechnology 24(1): 117-126.
25. Mahgoub M.H., El-Aziz N.A., and Mazhar A.M.A. 2011. Response of *Dahlia pinnata* L. plant to foliar spray with putrescine and thiamine on growth, flowering and photosynthetic pigments. American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences 10(5): 769-775.
26. Martin-Tanguy J. 2001. Metabolism and function of polyamines in plants. Plant Growth Regulation 34(1): 135-148.
27. Mashahiri Y., and Hassanpour Asil M. 2018. Effects of gibberellic acid and humic acid on some growth characters of Daffodil. Iranian Journal of Horticultural Science, (*Narcissus jonquilla* cv. German). 48(4): 875-886. (In Persian with English abstract)
28. Mohammadi G.A., Salehi Sardoei A., and Shahdadneghad M. 2014. Improvement of the vase life of cut gladiolus flowers by salicylic acid and Putrescine. International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research 2(2): 417-426.
29. Mohammadi Torkashvand A., Tofighi Alikhani T., Kaviani B., and Ghasemnejad M. 2018. Impact of potassium on the yield of lily (*Lilium longifolrum× Asiatic* cv. Termoli) and antioxidant enzymes activity under drought stress. Journal of Plant Process and Function 7(25): 29-38.
30. Mojtahedi M., and Lesani H. 1985. Life of Green Plant. Tehran University Publication. Iran. (In Persian)

31. Mutui T.M., Emongor V.E., and Hutchinson M.J. 2001. Effect of accel on the vase life and postharvest quality of (*Alstroemeria aurantiaca* L.) cut flowers. African Journal Science and Technology 2: 82-88.
32. Mutui T.M., Emongor V.E., and Hutchinson M.J. 2003. Effect of benzyladenine on the vase life and keeping quality of Alstroemeria cut flowers. Journal of Agriculture, Science and Technology 5(1): 91-105.
33. Mutui T.M., Emongor V.E., and Hutchinson M.J. 2006. The effects of gibberellin$_{4+7}$ on the vase life and flower quality of Alstroemeria cut flowers. Plant Growth Regulation 48: 207-214.
34. Nabavi Mohajer Z.S., Hassanpour Asil M., Olfaty J.A., and Khaledian M. 2018. Effect of macro elements concentration on quantitative and qualitative traits of lily cut flower (*Lilium* LA Hybrid Fangio) in soilless culture. Iranian Journal of Horticultural Science 50(1): 47-60. (In Persian with English abstract)
35. Nahed G.A.A., Lobna S.T., and Soad M.I. 2009. Some studies on the effect of putrescine, ascorbic acid and thiamine on growth, flowering and some chemical constituents of gladiolus plants at Nubaria. Ozean Journal of Applied Sciences 2(2): 169-179.
36. Otsubo M., and Iwaya-Inole M. 2000. Trehalose delays senescence in cut gladiolus spikes. Horticultural Science 35: 1107-1110.
37. Ramesh K., Kartar S., and Reddy B. S. 2002. Effect of planting time, photoperiod, GA_3 and pinching on carnation. Journal ornamental Horticulture 5(4): 20-23.
38. Rani P., and Singh P. 2013. Impact of gibberellic acid pretreatment on growth and flowering of tuberose (*Polianthes tuberosa* L.) cv. Prajwal. Journal of Tropical Plant Physiology 5: 33-41.
39. Rubinowska K., Pogroszewska E., and Michalek W. 2012. The effect of polyamines on physiological parameters of post - harvest quality of cut stems of Rosa 'Red Berlin'. Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus 11: 81-93
40. Salehi S.A., Rahbarian P., and Fallah I.A. 2014. Stimulatory Effect of gibberellic acid and benzyladenine on Growth and Photosynthetic pigments of *Ficus benjamina* L. Plants. International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research 2(1): 34-42
41. Santos M.N.D.S., Tolentino M.M., and Mapeli A.M. 2018. Vase life of cut *Lilium pumilum* inflorescences with salicylic acid. Ornamental Horticulture 24(1): 44-49.
42. Sarkar M.A.H., Hossain M.I., Uddin A.F.M.J., Uddin M.A.N., and Sarkar M.D. 2014. Vegetative, floral and yield attributes of gladiolus in response to gibberellic acid and corm size. Scientia Agriculturae 7(3): 142-146.
43. Singh A., Kumar J., and Kumar P. 2008. Effects of plant growth regulators and sucrose on post -harvest physiology, membrane stability and vase life of cut spikes of gladiolus. Plant Growth Regulation 55(3): 221.
44. Skutnik E., Lukaszewska A., Serek M., and Rabiza J. 2001. Effect of growth regulators on postharvest characteristics of *Zantedeschia aethiopica*. Postharvest Biology and Technology 21(2): 241-246.
45. Soleimany-Fard E., Hemmati K., and Khalighi A. 2014. Impact of pre-and post-harvest putrescine applications on water relations and vase life of cut alstroemeria flowers. Advances in Environmental Biology 8(12): 158-166.
46. Taheri-Shiva N., Hatamzade A., Bakhshi D., Rasouli M., and Ghasemnezhad M. 2014. The Effect of gibberellic acid treatment at different stages of inflorescence development on anthocyanin synthesis in *Oriental Hybrid Lily* var. 'Sorbbone'. Agricultural Communications 2(1): 49-54.
47. Yamaguchi S. 2008. Gibberellin metabolism and its regulation. Annual Review of Plant Biology 59: 225-251.

Journal of Horticultural Science
https:// jhs.um.ac.ir

Research Article
Vol. 36, No. 1, Spring 2022, p. 177-191

Investigation of Genetic Diversity of Some Wild Barberry Genotypes (*Berberis* spp.) in Alborz and Tehran Provinces Using Morpho-pomological Markers

M. Pirkhezri[1*]

Received: 17-03-2021
Revised: 20-06-2021
Accepted: 18-10-2021
Available Online: 20-06-2022

How to cite this article:
Pirkhezri M. 2022. Investigation of Genetic Diversity of Some Wild Barberry Genotypes (*Berberis* spp.) in Alborz and Tehran Provinces Using Morpho-pomological Markers. Journal of Horticultural Science 36(1): 177-191. (In Persian with English abstract)
DOI: 10.22067/JHS.2021.68493.1018

Introduction

Barberry is one of the native plants of Iran and tolerates environmental stresses, especially drought. This species can play a special role in the future development of horticulture in Iran. This species is drought tolerant and can be used in the development of rain-fed gardens. The Barberry family contains 15 genera and 650 species, most of which are distributed in the temperate regions of the Northern Hemisphere. The most important genus in the barberry family is *Berberis*. This genus has 500 species, some of which, including Zalzalaki, Zarafshani, Khorasani, Rastkhoshe, common and Japanese barberry, exist in Iran (i.e., *Berberis vulgaris, B. orthobotrys, B. crataegina, B. integerrima, and B. khorasanica*, respectively). This plant is widely distributed in Iran. Various wild species of barberry are distributed in the southern and northern slopes of Alborz from Firoozkooh, Taleghaneh, Miyaneh to Amarlu of Gilan. This genus grows on large areas of the Zagros at an altitude of 1000 to 2500 meters above sea level. Iran is the largest producer of seedless barberry in the world with a cultivated area of 18341 hectares and production of 21181 tons of dried barberry. This species can play a special role in the future development of horticulture in the country and reduce the pressure on water resources, especially in rain-fed horticulture.

Materials and Methods

In this study, 25 genotypes were evaluated from three regions: west of Alborz province (Taleghan region), north of Alborz province (Chalus road and Khuzenkola, Arangeh, Asara to Dizin heights) and northeast of Tehran (Lavasanat). Morphological evaluation was performed according to UPOV instruction (TG 68/3). 32 quantitative and qualitative morphological and horticultural traits were evaluated according to UPOV (TG 3.68). Of which, 11 quantifiable traits including leaf length and width, fruit length and width, pedicel length, Berries per raceme, cluster length, spines length, vitamin C, TA (Titratable Acidity) and TSS (Total Soluble Solid) were analyzed.

Results and Discussion

The results of analysis of variance showed significant differences between genotypes for all quantative traits evaluated at the level of 1% and for the number of berries per cluster at the level of 5%. The high coefficient of variation indicates high variability for the desired trait, which allows the breeder to have more choices for selecting desired genotypes. The number of fruits per cluster with 45.55, spines length with 28.67 and titratable acid with 26.58 percent malic acid, had the highest range of changes. Qualitative traits included Foliage secondary color, Leaf curvature and Leaf margin, Leaf glossiness, Color of lower side, Fruit tip, Fruit waxiness, Foliage persistence, and Shoot color in spring among the genotypes were uniform and without variance. The lowest coefficient of variation among quantitative traits was related to Brix (7. a16 percent) and fruit length

1- Assistant Professor, Temperate Fruits Research Center, Horticultural Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran
(*- Corresponding Author Email: pirkhezri_mohi@yahoo.com)

(13.14 percent). The highest number of fruits was belonged to Lavasan genotype (AD8) giving an average of 25 fruits per cluster, which was substantially different from other genotypes. The highest and lowest fruit length and width are related to Taleghan 5 (11.59 mm) and Chalus 7 (3.26 mm) genotypes, respectively. In a study, the average length and width of barberry fruit were 7.69 and 3.32 mm, respectively. Vitamin C is one of the nutritional values of fruits and has direct effects on human health. Wild barberry genotypes possessing the least vitamin C content (4.7 mg/per 100 gram) of fresh fruit (Asara I genotype) and also the fruits containing the highest values (i.e., 10.57 (Taleghan 4), 9.63 (Chalous 8) and 9.4 (Taleghan 8)) yielded more than even temperate fruits such as stone and pome fruits (The mean amount of vitamin C in apples, grapes and black cherries is 4.6, 4, 10 mg/100 g FW, respectively). This value in strawberries as an indicator plant is reported between 10 and 100 and an average of 58.8 and the value for lemons is 53 mg/100 g FW. Khayat and Mahmoud Abadi (2010) reported the amount of vitamin C in seedless barberry treated by fertilizers varied from 4 to 9 mg per 100 g of fresh fruit.

The highest values of total soluble solids or Brix° were related to Chalus 8 genotypes with value of 24.83% and Chalus 1 with value of 23.23% and the lowest amount was related to Asara 2 genotype with 18.1%. Khayat and Mahmoud Abadi (2010) reported the total soluble solids ranged between 18.3 to 33.06 percent in seedless barberry, which is much higher than our experiment. The highest titratable acidity were observed in Taleghan 4, Taleghan 8 and Taleghan 2 genotypes, with 2.66, 2.65 and 2.41 mg/ml malic acid respectively, and the lowest titratable acid was observed in Chalus 9 genotype with 1.12 mg/ml malic acid. This value has been reported in domestic barberry is between 1.07 and 2.95. The highest mean leaf lengths were observed in Chalus cultivars 3 and 5. Among the genotypes, Taleghan 7 has the longest Pedicel length.

Conclusion

The selected genotypes for breeding programs were the Oshan (AD8) genotypes with an average of 25 fruits per cluster. Regarding vitamin C content the prominent genotypes were the Taleghan 4 (10.57), Chalus 8 (9.63) and Taleghan 8 (9.4) mg/100 g F.W. The highest genotypes for total soluble solids were Chalus 8 genotypes with 24.83 and Chalus 1 with 23.23 percent.

Keywords: Barberry, Cluster analysis, Genetic distance, Vitamin C

نشریه علوم باغبانی
https:// jhs.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۶، شماره ۱، بهار ۱۴۰۱، ص ۱۹۱-۱۷۷

ارزیابی تنوع ژنتیکی برخی از ژنوتیپ‌های زرشک وحشی (*Berberis* spp.) در استان‌های البرز و تهران با استفاده از نشانگرهای ریخت‌شناسی و میوه‌شناسی

محی الدین پیرخضری[1*]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۲/۲۷
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۷/۲۶

چکیده

زرشک از گیاهان بومی ایران و متحمل به تنش‌های محیطی بخصوص خشکی است. تنوع ژنتیکی ۲۵ ژنوتیپ زرشک وحشی در دامنه‌های شمالی استان‌های تهران و البرز با استفاده از خصوصیات مورفولوژیکی مورد بررسی قرار گرفت. ۳۲ صفت کمّی و کیفی مورفولوژیکی و باغبانی بر اساس دستورالعمل UPOV (TG 68/3) ارزیابی شدند که از این تعداد ۱۱ صفت کمی قابل اندازه‌گیری شامل طول و عرض برگ، طول و عرض میوه، طول دمگل، تعداد حبه در خوشه، طول خار، ویتامین ث، TA (Titratable Acidity) و TSS (Total Soluble Solid) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برای تعیین فاصله ژنتیکی بین ژنوتیپ‌ها از روش‌های آماری چند متغیره شامل تجزیه به عامل‌ها، تجزیه خوشه‌ای و ضرایب همبستگی بین صفات استفاده شد. نتایج تجزیه واریانس اختلاف معنی‌داری را بین ژنوتیپ‌ها برای تمام صفات کمّی مورد ارزیابی نشان داد. تعداد حبه در خوشه با ۴۵/۵۵ ، طول خار با ۲۸/۶۷ و اسید قابل تیتراسیون با ۲۶/۵۸ درصد بیشترین دامنه تغییرات را داشتند. ژنوتیپ‌های وحشی زرشک با دارا بودن حداقل میزان ۴/۷ میلی‌گرم ویتامین ث در صد گرم میوه تازه (ژنوتیپ آسارا یک) و بیشترین مقدار ویتامین ث ۱۰/۵۷ (طالقان ۴) و ۹/۶۳ (چالوس ۸) و ۹/۴ (طالقان ۸) در مقایسه با میوه های معتدله مانند سیب، انگور، گیلاس و هلو قابل توجه هستند. طبق تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های زرشک وحشی به پنج گروه اصلی و ده زیر گروه و یک ژنوتیپ مستقل (چالوس ۹) تقسیم شدند. در اکثر موارد ژنوتیپ‌ها با موقعیت اقلیمی یکسان رویشی در یک گروه قرار گرفتند. ژنوتیپ‌های گروه یک بالاترین طول و عرض میوه، طول و عرض برگ و طول خار را داشتند. در این میان ژنوتیپ‌های چالوس ۸ و طالقان ۸ با دارا بودن مقدار بالای ویتامین ث، در یک زیر گروه قرار گرفتند. ژنوتیپ‌های طالقان۴، چالوس ۸ و طالقان ۸ با بیشترین میزان ویتامین ث قابل اهمیت در برنامه‌های اصلاحی هستند. تنوع مشاهده شده در بین ژنوتیپ‌های زرشک وحشی زمینه مناسبی برای برنامه‌های اصلاحی و انتقال صفات مطلوب می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: تجزیه خوشه‌ای، زرشک، فاصله ژنتیکی، ویتامین ث

مقدمه

زرشک از گیاهان بومی ایران و متحمل به تنش‌های محیطی بخصوص خشکی است. زرشک درختچه‌ای تیغ‌دار با نام علمی *Berberis* spp. از تیرهٔ Berberidaceae است که به عنوان یک گیاه دارویی مهم در ایران و بسیاری از کشورهای دنیا از گذشته تاکنون مورد استفاده بوده است. این گیاه یک پایه و گل‌هایش دو جنسی است. گل زرشک خوشه‌ای است. برگ‌هایش عموماً چرمی، حاشیه برگ در بعضی واریته‌ها صاف و در برخی دندانه‌دار است. درختچه زرشک خاردار است و خارهای آن از تبدیل برگ‌ها بوجود آمده‌اند که در محل اتصال خارها به شاخه پهن‌تر می‌شوند. جنس زرشک خود بارور و اختصاصاً اتوگام است (Cardi, 1992). خاصیت سیسموناستی (Seismonasty) بساک‌ها (حالتی که سبب بازشدن یکبارهٔ بساک و رها شدن گرده به روی کلاله در پاسخ به محرک بیرونی می‌شود) و رفتار زنبورهای خرمایی یا زنبور عسل هنگام استفاده از نکتار گل‌ها به خودگرده‌افشانی آن (Anderson *et al.*,

۱- استادیار پژوهش، پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری، مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
(*- نویسنده مسئول : Email: pirkhezri_mohi@yahoo.com)
DOI: 10.22067/JHS.2021.68493.1018

cardic, 19922001 ;) کمک می‌کند. در این مکانیزم میله بساک‌ها با لمس یا تکان خوردن به وسیله حشرات همانند فنر بسرعت به سمت کلاله می جهند و دانه گرده با ریختن روی کلاله سبب خود گرده افشانی می‌شود (Anderson et *al*., 2001). با این وجود در برخی منابع دگرگرده‌افشانی را مکانیزم اصلی در گونه زرشک اروپایی *B. vulgaris* ذکر کرده‌اند (Rezaei *et al*., 2011). در حال حاضر زرشک وحشی در دامنه های البرز منبع درآمدی برای جوامع محلی است که از آن آب زرشک تهیه می نمایند و اعتقاد بر این است برای کاهش چربی خون بسیار موثر است.

از جمله خواص دارویی زرشک می‌توان به درمان بیماری‌های کبدی (Blumenthal, 1998)، خاصیت آنتی اکسیدانی (Duke, 2002)، ضد انگلی، ضد التهابی و کاهنده قند (Yin *et al*., 2008)، کلسترول (Sun *et al*., 2009)، تری گلیسرید و فشار خون (Duke, 2002) اشاره کرد. تیره زرشک شامل ۱۵ جنس و ۶۵۰ گونه است که بیشترآن‌ها در مناطق معتدله نیمکره شمالی پراکنده‌اند Bottini et *al*., 2002). مهم‌ترین جنس در تیره زرشک *Berberis* است. در این جنس گونه‌هایی از جمله زرشک زالزالکی، زرافشانی، خراسانی، راست خوشه، معمولی و زرشک ژاپن (*Berberis vulgaris, B. orthobotrys, B. crataegina, B. integerrima, and B. khorasanica*) در ایران وجود دارد (Rezaei *et al*., 2011). زرشک از گیاهان بومی ایران و متحمل به تنش‌های محیطی به‌خصوص خشکی است. این گونه می تواند در توسعه آتی باغبانی کشور و کاهش فشار بر منابع آبی نقش ویژه ای بخصوص توسعه باغداری دیم ایفا نماید. این گیاه در ایران پراکنش زیادی داشته، انواع گونه‌های وحشی زرشک در دامنه‌های جنوبی و شمالی البرز، فیروزکوه، ارنگه، طالقان، میانه تا عمارلوی گیلان و مناطق وسیعی از دامنه‌های زاگرس در ارتفاعات ۱۰۰۰ تا ۲۵۰۰ متری از سطح دریا انتشار دارند. در شیب‌های تند و به ویژه خاک‌های آهک‌دار در آذربایجان، گیلان، مازندران، گلستان، تهران، خراسان و فارس دیده می‌شوند (Rezaei *et al*., 2011). نوع پرورش یافته آن بی‌دانه بوده که در مناطق مختلفی از استان خراسان جنوبی بخصوص بیرجند و قائنات کاشته می‌شود که جهت چاشنی غذا مورد استفاده قرار می‌گیرد. ایران با سطح زیر کشتی بالغ بر ۱۸۳۴۱ هکتار و تولید ۲۱۱۸۱ تن زرشک خشک، بزرگترین تولید کننده زرشک بی‌دانه در دنیا می‌باشد، و بیش از ۹۸/۷ درصد تولید جهانی زرشک متعلق به کشور ایران می‌باشد (Ahmadi *et al*., 2019).

کشور ایران تنوع گیاهی و ذخایر ژنتیکی بسیار ارزشمندی به‌ویژه در زمینه محصولات باغبانی دارد. افزایش عملکرد محصولات کشاورزی عمدتاً متکی بر اصلاح و ایجاد ارقام پرمحصول بوده و تنوع ژنتیکی پایه و اساس کار به نژادی است (Eftekhari *et al*., 2010). موفقیت در به نژادی، مستقیماً به تنوع ژنتیکی موجود در گیاه مورد نظر بستگی دارد. گونه‌های وحشی زرشک به دلیل تنوع زیادی که دارند یکی از منابع غنی ژنتیکی جهت انتخاب ارقام برتر برای انجام کارهای اصلاحی هستند. وجود تنوع در جوامع گیاهی به‌عنوان ماده اولیه به‌نژادی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. بررسی تنوع ژنتیکی جهت مطالعه ژرم پلاسم، تهیه برنامه‌های به‌نژادی، بررسی روند تکامل گونه، رده‌بندی و بسیاری مسائل دیگر اهمیت دارد (Mezzetti *et al*., 2016). بر اساس مطالعات انجام شده روی جنس زرشک وضعیت تنوع ژنتیکی در بین گونه‌های زرشک با استفاده از فاکتورهای مورفولوژیکی در آرژانتین و شیلی مورد بررسی قرار گرفت و نتیجه حاکی از تنوع زیاد و قابل توجه در بین گونه‌های زرشک بود (Bottini *et al*., 2000). تحقیقات انجام شده روی ۲۵ ژنوتیپ زرشک نشان داد که ژنوتیپ‌های بی‌دانه به دلیل نداشتن بذر، دارای تنوع خصوصیات میوه کمتری نسبت به ژنوتیپ‌های دانه‌دار هستند (Alizadeh and Hassanpour, 2017). با بررسی بیش از ۴۰ گونه زرشک، ماهونیا و...براساس نشانگرهای مورفولوژیکی و مولکولی مشخص شد که بسیاری از این گونه‌ها دانه‌دار بوده و کیفیت خوراکی خوبی ندارند (Kim and Jansen, 1994). با بررسی تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت‌های زرشک وحشی استان خراسان مشاهده شد که تفاوت قابل توجهی بین این جمعیت‌ها وجود دارد (Heidari *et al*., 2009). این گونه گیاهی می تواند در توسعه آتی باغبانی کشور و کاهش فشار بر منابع آبی نقش ویژه ای بخصوص در باغداری دیم ایفا نماید.

با توجه به اینکه ایران یکی از مناطق اصلی کشت و کار، تولید و همچنین خاستگاه و مرکز تنوع زرشک می‌باشد لذا شناسایی و جمع‌آوری ژرم پلاسم وحشی زرشک و ارزیابی ژرم‌پلاسم جمع‌آوری شده بر اساس دیسکریپتور UPOV جهت گروه‌بندی و تعیین میزان تشابه بین ارقام مختلف زرشک می‌تواند در معرفی ارقام برای مناطق مشابه و دورگ‌گیری در راستای برنامه‌های اصلاحی و ایجاد ژنوتیپ‌های نوین با خصوصیات فیزیولوژیک مطلوب‌تر حائز اهمیت می‌باشد. هدف از این پژوهش شناسایی، ارزیابی و جمع‌آوری ژنوتیپ‌های وحشی زرشک در استان‌های تهران و البرز و نگهداری در کلکسیون ملی بیرجند است.

مواد و روش‌ها

مناطق رویش زرشک وحشی در استان‌های تهران و البرز از غرب یعنی منطقه طالقان هم‌جوار منطقه الموت استان قزوین تا شرق آن یعنی ارتفاعات هم‌جوار استان مازندران در دامنه‌های رشته کوه البرز بصورت تک بوته‌ای، گاهی مجتمع در تمامی جهات شیب‌ها و حتی تا شیب‌های تند ۴۵ درجه با درختچه‌هایی تا ارتفاع سه متر پراکنده است. به‌همین منظور در سه منطقه نسبت به جمع‌آوری ژنوتیپ‌ها در

سال ۱۳۹۶ اقدام گردید. این سه منطقه شامل:

۱) غرب استان البرز (منطقه طالقان) از ارتفاع ۱۷۵۰ متری میان بیشه شیب جنوبی تا ارتفاع ۲۲۰۰ متری گیلیرد شیب شمالی (شکل ۱).

۲) شمال استان البرز (جاده چالوس و مناطق خوزنکلا، ارنگه، آسارا تا ارتفاعات دیزین) از ارتفاع ۱۷۰۰ متر تا ۲۲۵۰ متری دو راهی دیزین.

۳) شمال و شمال شرق تهران (لواسانات) از دامنه های امین آباد حدود ۱۷۰۰ متر تا دامنه های میگون ۲۱۵۰ متر (شکل ۱).

شکل ۱- مناطق شناسایی و ارزیابی نمونه های زرشک وحشی

Figure 1- Areas for identification and evaluation of wild barberry samples

در مجموع از این مناطق ۲۵ ژنوتیپ شناسایی، جمع‌آوری و ارزیابی گردید (جدول ۱). ۳۲ صفت کمّی و کیفی مورفولوژیکی و باغبانی بر اساس دستورالعمل UPOV (TG 68/3) ارزیابی شدند (جدول ۲) که از این تعداد ۱۱ صفت کمی قابل اندازه گیری شامل طول و عرض برگ، طول و عرض میوه، طول دمگل، تعداد حبه در خوشه، طول خار، ویتامین ث، TA (Titratable Acidity) و TSS (Total Soluble Solid) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. در هر درخت سه تکرار در سه جهت مختلف نمونه‌گیری و در هر نمونه ۲۰ عدد برگ، گل، خوشه اندازه‌گیری شد. نمونه‌گیری‌ها در زمان گل (هفته اول اردیبهشت) و رسیدن میوه (دهه اول شهریور ماه) انجام گرفت. اندازهٔ میوه، دمگل، و ابعاد برگ و خارها با کولیس دیجیتالی و سایر صفت‌ها با خط‌کش، مواد جامد محلول با رفرکتومتر، اسید قابل تیتراسیون (TA) بر اساس اسید غالب (اسید مالیک) (فرمول ۱) انجام گردید. اندازه‌گیری ویتامین ث با روش تیتراسیون و با کمک یدیدپتاسیم و معرف نشاسته صورت گرفت. ۵ میلی‌لیتر از آب‌میوه صاف شده با ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط گردید و ۲ میلی‌لیتر محلول نشاسته ۱ درصد به آن اضافه شد. محلول حاصله با یدورپتاسیم (۱۶ گرم یدور پتاسیم + ۱/۲۷ گرم کریستال ید در یک لیتر متانول) تیتر شد و میزان ویتامین ث با استفاده از (فرمول ۲) به دست آمد (A.O.A.C, 2002). داده‌ها با نرم‌افزار آماری SAS تجزیه و تحلیل شدند و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد. از روش‌های چند متغیره آماری شامل تجزیه کلاستر Average Linkage (Between Groups) و تجزیه به عامل‌های اصلی جهت گروه‌بندی و بررسی صفات موثر ارقام استفاده شد.

فرمول ۱)

$$TA_{malic\ acid\%} = ((0.0067\times10\times V1)/V))\times100$$

V1=میزان سود مصرفی، V= حجم نمونه

فرمول ۲)

$$c = \left(\frac{0.88\times V}{5}\right)\times100$$ ویتامین ث

C= میزان ویتامین ث بر حسب میلی گرم در ۱۰۰ میلی لیتر آب میوه، V= حجم یدور پتاسیم بر حسب میلی لیتر

جدول ۱- اطلاعات توصیفی در مورد نام و کد ۲۵ ژنوتیپ زرشک وحشی مورد ارزیابی

Table 1- Descriptive information on the names and codes of the 25 evaluated wild barberry genotypes

ژنوتیپ Genotype	کد Code	شماره Number	ژنوتیپ Genotype	کد Code	شماره Number	ژنوتیپ Genotype	کد Code	شماره Number	ژنوتیپ Genotype	کد Code	شماره Number	ژنوتیپ Genotype	کد Code	شماره Number
طالقان۱ Taleghan 1	T1	G1	طالقان۶ Taleghan 6	T6	G6	چالوس Chalous 3	Ch 3	G11	چالوس ۸ Chalous 8	Ch8	G16	گچسر Ghachsar	AD4	G21
طالقان ۲ Taleghan 2	T2	G2	طالقان۷ Taleghan 7	T7	G7	چالوس ۴ Chalous 4	Ch 4	G12	چالوس ۹ Chalous 9	Ch9	G17	دیزین۱ Dizin1	AD5	G22
طالقان ۳ Taleghan 3	T3	G3	طالقان۸ Taleghan 8	T8	G8	چالوس ۵ Chalous 5	Ch 5	G13	آسارا ۱ Asara1	AD1	G18	دیزین ۲ Dizin2	AD6	G23
طالقان ٤ Taleghan 4	T4	G4	چالوس ۱ Chalous 1	Ch1	G9	چالوس۶ Chalous 6	Ch 6	G14	آسارا ۲ Asara2	AD2	G19	فشم Gheshm	AD7	G24
طالقان Taleghan 1 5	T5	G5	چالوس۲ Chalous 2	Ch2	G10	چالوس ۷ Chalous 7	Ch 7	G15	آسارا۳ Asara3	AD3	G20	اوشان Oshan	AD8	G25

جدول ۲- صفات کمی و کیفی مورد ارزیابی در ۲۵ ژنوتیپ زرشک وحشی

Table 2- Quantitative and qualitative traits evaluated in 25 wild barberry genotypes

زمان گلدهی کامل Time of full blooming	عادت گلدهی Flowering habit	رنگ ثانویه شاخ و برگ Foliage secondary color	رنگ شاخه در بهار Shoot color in spring	پایداری شاخ و برگ Foliage persistence	رنگ شاخ و برگ Foliage color	عادت رشدگیاه Growth habit	قدرت رشدگیاه Plant vigor
موجدار بودن برگ Leaf undulation	براق بودن برگ Leaf glossiness	رنگ سطح زیرین برگ Color of leaf lower side	بریدگی حاشیه برگ Leaf margin	پیچش برگ Leaf curvature	شکل برگ Leaf shape	طول برگ Leaf length	عرض برگ Leaf width
طول خار Spine length	شکل خار Spine shape	رنگ گل Flower color	نوک گلبرگ Petal apex	بذردهی میوه درشرایط گرده افشانی آزاد Seeds in open pollination	رنگ خارجی قرمزجوانه گل Flower bud red external color	تعداد گل درگل آذین flower No. in Inflorescence	نوع گل آذین Inflorescence type
حضورخار Spine presence	ویتامین ث Vitamin C	مواد جامد محلول TSS	اسید قابل تیتراسیون TA	موم روی سطح میوه Fruit waxiness	رنگ میوه Fruit color	شکل نوک میوه Fruit tip shape	شکل میوه Fruit shape

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس اختلاف معنی‌داری را بین ژنوتیپ‌ها برای تمام صفات کمّی مورد ارزیابی در سطح یک درصد و برای صفت تعداد حبه در خوشه در سطح پنج درصد نشان داد (جدول ۳). دامنه تغییرات صفات وسعت بالایی از تغییرات را بیان کرد (داده‌ها نشان داده نشده)، بالا بودن ضریب تغییرات نشان دهنده دامنه تنوع بالا برای صفت مورد نظر است که به اصلاحگر امکان انتخاب بیشتری را میدهد و میتواند در دامنه وسیع‌تر انتخاب‌های مطلوب‌تری داشته باشد.

تعداد حبه در خوشه با ۴۵/۵۵ ، طول خار با ۲۸/۶۷ و اسید قابل تیتراسیون با ۲۶/۵۸ درصد بیشترین دامنه تغییرات را داشتند. صفات کیفی شامل رنگ ثانویه برگ، انحنا و شکاف نوک برگ، براقی برگ، رنگ پشت برگ، شکل نوک میوه، موم روی میوه و شکل نوک میوه، خزان‌دار بودن، رنگ شاخساره در بین ژنوتیپ‌ها یکنواخت و بدون واریانس بود. کمترین ضریب تغییرات در بین صفات کمّی مربوط به بریکس (TSS) با ۷/۱۶ و طول میوه با ۱۳/۱۴ درصد بود (داده‌های آمار توصیفی نشان داده نشده است).

جدول ۳- تجزیه واریانس صفات کمی ژنوتیپ‌های زرشک وحشی

Table 3- Variance analysis of quantitative traits of wild barberry genotypes

منبع تغییرات S.O.V.	درجه آزادی df	طول برگ Ll	عرض برگ Lw	تعداد حبه Fn	طول دم حبه FPL	عرض حبه Fw	طول حبه Fl	طول خار Sl	طول خوشه RL	ویتامین ث Vit.C	اسیدقابل تیتراسیون TA	درصد کل مواد جامد محلول TSS
		میانگین مربعات Mean square										
ژنوتیپ Genotypes	24	229.81**	16.73**	44.14*	3.73**	0.87**	2.63**	30.69**	132.05**	5.89**	0.55**	6.22**
خطا Error		17.47	5.56	28.3	0.82	0.16	0.28	5.54	24.47	0.04	0.003	0.14
ضریب تغییرات CV		16.67	17.02	71.4	13.34	8.88	5.8	16.16	14.47	6.8	5.4	7.1

**و*: به‌ترتیب در سطح یک و پنج درصد معنی‌دار است

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

* Abbreviations: Leaf length= Ll, Leaf width= Lw, Berries per raceme= Bpr, Fruit Pedicel Length= Fpl, Fruit width= Fw, Fruit length= Fl, Spine length= Sl, Raceme Length= RL

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در این پژوهش از نظر تعداد میوه تفاوت معنی‌دار وجود دارد به‌طوریکه بیشترین تعداد حبه مربوط به ژنوتیپ اوشان (AD8) با میانگین ۲۵ میوه بوده است که تفاوت زیادی با سایر ژنوتیپ‌ها داشته است در حالی که بین سایر ژنوتیپ‌ها از نظر صفت تعداد میوه اختلافی مشاهده نشد (جدول ۴). با توجه به ویژگی‌های میوه می‌توان نتیجه گرفت که ژنوتیپ اوشان(AD8) بیشترین تعداد حبه در خوشه در سال آزمایش را دارا بود. بنابراین این ژنوتیپ را می‌توان با بررسی تکمیلی بعنوان والد در کارهای اصلاحی مد نظر قرار داد.

بیشترین طول میوه مربوط به ژنوتیپ طالقان۵ (۱۱/۵۹میلی‌متر) و کمترین طول میوه مربوط به ژنوتیپ چالوس۷ (۳/۲۶ میلی‌متر) بود. . در تحقیق طالبی و همکاران (Talebi *et al.*, 2020) بیشترین طول میوه ۱۱/۹ میلی متر گزارش شد. آکبولوت و همکاران (Akbulut *et al.*, 2009) در مطالعه‌ای که به بررسی خصوصیات میوه زرشک پرداختند مشخص شد که متوسط طول و عرض میوه زرشک به ترتیب ۷/۶۹ و۳/۳۲ میلی‌متر بود که مقادیر حاصل از پژوهش حاضر بیشتر از این مقادیر بود (Akbulut *et al.*, 2009). ویتامین ث یکی از فاکتورهای ارزش غذایی میوه‌ها می باشد و اثرات مستقیم در سلامت انسان دارد. ژنوتیپ‌های وحشی زرشک با دارا بودن حداقل ۴/۷ میلی‌گرم ویتامین ث در صد گرم میوه تازه (ژنوتیپ آسارا یک) و بیشترین مقدار ویتامین ث ۱۰/۵۷ (طالقان ۴) و ۹/۶۳ (چالوس ۸) و ۹/۴ (طالقان ۸) میلی‌گرم در صد گرم میوه تازه در مقایسه به میوه‌های معتدله مثل هلو و سیب قابل توجه هستند. مقدار ویتامین ث در سیب ۴/۶، انگور ۴، گیلاس سیاه ۱۰، هلو ۶/۶ میلی‌گرم در صد گرم میوه تازه است. در توت فرنگی به عنوان گیاه شاخص این مقدار بین ۱۰ تا ۱۰۰ و متوسط ۵۸/۸ (Mezzetti *et al.*, 2016) و لیموها ۵۳ میلی‌گرم در صد گرم میوه تازه گزارش گردیده است (Fenech *et al.*, 2019). خیاط و محمود آبادی (Khayyat and Mahmudabadi, 2010) میزان ویتامین ث در زرشک اهلی را با بکار بردن تیمارهای تغذیه‌ای بین ۴ تا ۹ میلی‌گرم در صد گرم میوه تازه گزارش نمودند که در این تحقیق مقدار ویتامین ث در زرشک دانه‌دار بیشتر بود (Khayyat and Mahmudabadi, 2010). بیشترین مقدار مواد جامد محلول کل یا بریکس به ترتیب مربوط به ژنوتیپ‌های چالوس ۸ با ۲۴/۸۳ و چالوس یک با ۲۳/۲۳ و کمترین مقدار مربوط به ژنوتیپ آسارا ۲ با ۱۸/۱ درصد بود که در گزارش خیاط و محمود آبادی (Khayyat and Mahmudabadi, 2010) بین ۱۸/۳ تا ۳۳/۰۶ گزارش گردیده ده واحد بالاتر بود. بیشترین مقدار اسیدیته قابل تیتراسیون به ترتیب در ژنوتیپ‌های طالقان ۴ (۲/۶۶)، طالقان ۸ (۲/۶۵) و طالقان ۲ (۲/۴۱) بود و کمترین مقدار اسید قابل تیتراسیون در ژنوتیپ چالوس ۹ با ۱/۱۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اسید مالیک مشاهده شد. این مقدار در زرشک بی دانه بین ۱/۰۷ تا ۲/۹۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اسید مالیک گزارش گردیده است (Khayyat and Mahmudabadi, 2010). بیشترین میانگین طول برگ در ارقام چالوس ۳ و ۵ مشاهده شد. در میان ژنوتیپ‌ها بلندترین طول دمگل را ژنوتیپ طالقان ۷ به خود اختصاص داده است. بالاترین میزان طول خار (۲۱ میلی‌متر) در ژنوتیپ چالوس ۳ و کمترین میزان طول خار (۷ میلی‌متر) در ژنوتیپ گچسر مشاهده شد. در حالی‌که در پژوهش طالبی و همکاران (Talebi *et al.*, 2020) دامنه طول خار از ۹/۶ میلی‌متر تا ۳۹/۶ میلی‌متر در زرشک‌های شمال شرق کشور گزارش شده است. همچنین نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که، حبه در خوشه در دامنه ۲۵-۱/۸۷ عدد، طول میوه در دامنه ۱۱/۵۹ -۶/۴ میلی‌متر، عرض میوه در دامنه ۵/۴۵ -۳/۲۶ میلی‌متر، طول برگ در دامنه ۵۸/۳ -۱۴/۱۲ میلی‌متر و طول دم‌میوه در دامنه ۹/۵۴ -۳/۷۶ میلی‌متر است (جدول ۴). بر اساس گزارش آکبولوت و همکاران (Akbulut *et al.*, 2009) طول و عرض میوه گونه *Berberis vulgaris* به ترتیب ۷/۶۹ و ۳/۳۲ میلی‌متر بود که در مقایسه با این بررسی دامنه تنوع کمتری داشت. مطالعات انجام شده روی ویژگی‌های میوه و بذر دو گونه زرشک *B. croatica* Horvat و *B. vulgars* L. نشان داد که شکل میوه هر دو گونه همسان بوده و در گونهٔ *B .croatica* Horvat شمار بذرها در هر میوه در بازه ۱/۵۸-۱/۲۳ و در گونهٔ *B. vulgars* L. ۱/۵۴-۱/۳۶ بود. به‌طورکلی میوه‌ها و بذرهای گونهٔ *B. vulgars* L. بطور قابل توجهی طویل‌تر، عریض‌تر و سنگین‌تر از میوه و بذرهای گونهٔ B .croatica Horvat بودند (Kremer *et al.*, 2012). همچنین گزارش شده است که بیشتر ویژگی‌های فیزیکی میوه در بین ژنوتیپ‌ها تفاوت معنی‌داری دارند و محدوده وزن میوه در ژنوتیپ‌های مورد بررسی از ۰/۰۷۳ تا ۰/۲۶۳ گرم متغیر بود (Yildiz *et al.*, 2014). برتری یک ژنوتیپ زرشک بر ژنوتیپ دیگر از نظر خصوصیات مورفولوژیکی به خاطر تفاوت‌های ژنتیکی و محیطی آن‌ها می‌باشد. مطالعات انجام شده روی ویژگی‌های ریخت‌شناسی زرشک در پاکستان نشان داد که ژنوتیپ و محل رشد آن عامل‌های اصلی تعیین کننده عادت رشد، عملکرد و ارزش تغذیه‌ای میوه زرشک هستند (Ahmed *et al.*, 2013). در پژوهش حاضر از نظر طول خوشه به ترتیب ژنوتیپ‌های طالقان ۷ و دیزین ۱ ژنوتیپ‌های برتر بودند. طول خوشه از اجزای عملکرد است و می تواند تعداد بیشتری حبه را روی خود داشته باشد. بر اساس گزارشات قبلی ژنوتیپ‌های زرشک از نظر صفات ریخت شناسی دارای تفاوت‌هایی با هم هستند که مشابه نتایج پژوهش حاضر است (Farhadi and Shahidi, 2014). تحقیقات انجام شده توسط علیزاده و حسن پور روی ۲۵ ژنوتیپ زرشک نشان داد که ژنوتیپ‌های بی‌دانه به دلیل نداشتن بذر، دارای تنوع خصوصیات میوه کمتری

نسبت به ژنوتیپ‌های دانه‌دار هستند (Alizadeh and Hassanpour, 2017). با توجه به اینکه این ژنوتیپ‌ها از مناطق متفاوتی جمع آوری شدند مشاهده گردید که تنوع بسیاری از نظر ریخت‌شناسی بین آن‌ها وجود دارد.

ژنوتیپ اوشان (AD8) با میانگین ۲۵ میوه در خوشه، و ژنوتیپ‌های طالقان ۴ (۱۰/۵۷)، چالوس ۸ (۹/۶۳) و طالقان ۸ (۹/۴) دارای بیشترین مقدار ویتامین ث بر اساس میلی‌گرم در صد گرم میوه تازه و ژنوتیپ‌های چالوس ۸ با ۲۴/۸۳ درصد و چالوس ۱ با ۲۳/۲۳ درصد مواد جامد محلول، ژنوتیپ‌های برتر بودند که پس از بررسی تکمیلی می توانند در برنامه‌های اصلاحی بر مبنای دورگ‌گیری حائز اهمیت باشند.

جدول ۴- مقایسه میانگین صفات کمی در ژنوتیپ‌های زرشک وحشی مورد بررسی با استفاده از آزمون دانکن

Table 4- Mean comparison of quantity traits in evaluated wild barberries by Duncan's multiple range test.

صفت Trait	طول‌خار Sl*	طول‌خوشه RL	تعداد حبه در خوشه Bnr	طول‌دمگل Pl	عرض‌میوه Fw	طول‌میوه Fl	عرض‌برگ Lw	طول‌برگ Ll	ویتامین ث Vit C	اسید قابل تیتراسیون T.A.	درصد مواد جامد محلول TSS
ژنوتیپ Genotype	(mm)	(mm)		(mm)	(mm)	(mm)	(mm)	(mm)	(mg.100 g^{-1} FW).	(mg.ml^{-1} malic acid)	(%)
1Ch	10.3^{hi}	39.05^{b-f}	8.15^{b}	5.3^{hi}	4.49^{a-h}	8.32^{gh}	15.4^{a-e}	43.6^{ad}	7.17^{de}	1.57 ^{eg}	23.23 ^{ab}
2Ch	14.15^{d-h}	39.15^{b-f}	6.5^{b}	5.72^{f-i}	5.19^{a-c}	9.39^{c-g}	13.1^{b-f}	31.6^{cf}	6.67 ^{eh}	1.36 ^{ik}	20.6 ^{di}
3Ch	24.65^{a}	37.85^{b-g}	6.1^{b}	7.9^{a-f}	3.75^{f-j}	10.14^{b-e}	17.8^{a-c}	58.3^{a}	6.53 ^{fi}	1.42 ^{gj}	20.57 ^{di}
4Ch	12.68^{e-i}	37.66^{b-g}	4.32^{b}	6.91c^{-h}	3.62^{g-j}	9.12^{d-g}	12.35^{c-f}	37.6^{be}	6.43 ^{gi}	1.67 ^{de}	19.2 ^{jm}
5Ch	14.75^{c-h}	26^{g-i}	5.1^{b}	6.66^{c-h}	4.37^{c-i}	8.72^{f-h}	17.3^{a-c}	55.65^{a}	6.87 ^{eg}	1.41 ^{gj}	21.23 ^{cf}
6Ch	18^{b-e}	41.35^{b-d}	10.7^{b}	8.48^{a-c}	3.6^{h-j}	8.72^{f-h}	18.4^{ab}	48.1^{ab}	6.8 ^{eg}	1.3 ^{il}	19.77 ^{gl}
7Ch	11.45^{g-i}	36.95^{b-h}	5.25^{b}	6.93^{c-h}	3.26^{j}	7.5^{hi}	13.7^{a-f}	44^{ad}	7.2 ^{de}	1.86 ^{c}	20.07 ^{fk}
8Ch	16^{c-h}	26.25^{gi}	4.75^{b}	6.16^{e-h}	3.53^{ij}	7.15^{i}	13.8^{a-f}	47.6^{ab}	9.63 ^{b}	1.46 ^{fi}	24.03 ^{a}
9Ch	20.11^{a-c}	26.18^{gi}	5.87^{b}	3.76^{i}	3.7^{f-j}	6.4^{i}	18.9^{a}	47.8^{ab}	7.07 ^{df}	1.12 ^{m}	18.77 ^{lm}
1T	19.31^{b-d}	39.8^{b-f}	7.6^{b}	6.86^{c-h}	4.57^{a-g}	10.22^{b-d}	9.78^{e-f}	36.52^{b-e}	5.5 ^{kl}	1.94 ^{c}	19.47 ^{il}
2T	10.33^{hi}	25.2^{gi}	10.7^{b}	5.51^{g-i}	3.89^{e-j}	9.79^{c-f}	11.23^{df}	36.57^{b-e}	8.63 ^{c}	2.41 ^{b}	21.27 ^{ce}
3T	14.24^{d-h}	27.9^{f-i}	10.5^{b}	7.1^{b-h}	4.41^{b-i}	8.98^{d-g}	9.81^{ef}	28.57^{d-f}	6.1 ^{hj}	1.8 ^{cd}	20.57 ^{di}
4T	12.62^{e-i}	21^{i}	3.1^{b}	5.09^{hi}	4.57^{a-g}	8.91^{e-g}	9.65^{e-f}	21^{f}	10.57 ^{a}	2.66 ^{a}	22.13 ^{bc}
5T	12.84^{e-i}	29.3^{e-i}	4.9^{b}	7.97^{a-e}	5.06^{a-d}	11.59^{a}	12.74^{b-f}	31.11^{c-f}	5.27 ^{lm}	1.17 ^{lm}	18.9 ^{km}
6T	17.34^{b-f}	22.5^{i}	5.1^{b}	5.69^{g-i}	4.21^{d-i}	9.21^{d-g}	9.54^{f}	24.43^{e-f}	6.47 ^{gi}	1.36 ^{ik}	19.53 ^{hl}
7T	13.76^{d-h}	53.1^{a}	6.8^{b}	9.54^{a}	4.8^{a-e}	8.94^{e-g}	10.81^{e-f}	39.62^{b-e}	7.63 ^{d}	1.7 ^{ef}	20.67 ^{dh}
8T	21.51^{ab}	31.65^{d-i}	1.87^{b}	9.13^{ab}	4.2^{d-j}	8.58^{f-h}	18.37^{a-b}	31.25^{c-f}	9.4 ^{b}	2.65 ^{a}	21.47 ^{cd}
1AD	11.83^{f-i}	22^{i}	4.4^{b}	5.45^{g-i}	5.11^{a-d}	9.02^{dg}	12.88^{bf}	33.2^{b-f}	4.7 ^{m}	1.38 ^{hk}	19.13 ^{jm}
2 AD	13.15^{e-i}	40.8^{b-e}	7.3^{b}	6.55^{c-h}	4.5^{a-h}	8.58^{f-h}	14.06^{a-f}	30.27^{c-f}	5.53 ^{jl}	1.22 ^{km}	18.1 ^{m}
3 AD	10.74^{g-i}	32.1^{c-i}	4.9^{b}	6.58^{c-h}	5.37^{ab}	10.07^{b-e}	12.6^{c-f}	34.07^{b-f}	6.06 ^{ik}	1.42 ^{fj}	19.8 ^{gl}
4 AD	7.96^{i}	44^{a-c}	7.9^{b}	8.17^{a-e}	5.08^{a-d}	8.6^{f-h}	16.95^{a-d}	16.95^{b-d}	6.47 ^{gi}	1.54 ^{eh}	20.17 ^{ej}
5 AD	10.74^{g-i}	44.3^{ab}	12.8^{b}	8.35^{a-d}	5.26^{a-c}	11.1^{ab}	13.37^{a-f}	35.88^{b-f}	8.67 ^{c}	1.27 ^{km}	18.23 ^{m}
6 AD	15.13^{c-h}	34.9^{b-h}	13.3^{b}	6.37^{c-h}	5.42^{a}	9.41^{c-g}	15.3^{a-f}	15.3^{a-f}	7.47 ^{d}	1.25 ^{jm}	19.1 ^{jm}
7 AD	16.26^{b-g}	37.45^{b-g}	3.35^{b}	7.52^{a-g}	5.45^{a}	10.47^{a-c}	14.12^{a-f}	14.12^{a-f}	7.13 ^{de}	1.36 ^{ik}	20.83 ^{dg}
8 AD	14.36^{d-h}	32.6^{b-i}	25^{a}	6.16^{d-h}	4.6^{a-f}	8.78^{fg}	14.45^{a-f}	14.45^{a-f}	6.77 ^{eg}	1.32 ^{il}	19.43 ^{il}

میانگین ها با حروف مشابه در هر ستون فاقد اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن هستند.

Means with similar letters in each column are not significantly different at 5% of probability level (Duncan's multiple range test).

* Abbreviations: Leaf length= Ll, Leaf width= Lw, Berries per raceme= Bpr, Fruit Pedicel Length= Fpl, Fruit width= Fw, Fruit length= Fl, Spine length= Sl, Raceme Length= RL

تجزیه به عامل‌ها

از تجزیه عامل‌ها جهت گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها و ارزیابی میزان تنوع بین آن‌ها استفاده می‌شود. کاربرد این روش برای انتخاب ژنوتیپ‌هایی است که در برخی صفات با ارزش هستند (Yilmaz *et al.*, 2009). چهار مولفه اول در تجزیه به عامل‌های اصلی معنی‌دار شده و در نتیجه در مدل باقی ماندند. مولفه اول ۲۶/۲۹ درصد از کل واریانس مدل را توجیه می‌کند، این درحالی است ۶۸/۳۷ درصد از مجموع واریانس توسط سه مولفه اصلی اول ایجاد شده است. بعد از چرخش وریماکس مختصات، شاهد توجیه یکنواخت‌تر واریانس‌ها هستیم به‌طوری‌که به‌ترتیب چهار عامل اصلی اول مشمول ۲۶/۲۹، ۲۱/۸۶،

۱۴/۴۶ و ۹/۷۶ درصد از مجموع واریانس هستند (جدول ۵). موثرترین صفات در توزیع ژنوتیپ‌ها صفات طول و عرض‌میوه، طول و عرض برگ و طول خار بودند که در مولفه اول جای گرفتند. در مولفه دوم صفات طول دم‌میوه، اسیدیته قابل تیتراسیون، مواد جامد محلول و طول خوشه قرار گرفتند. در مولفه سوم تعداد حبه در خوشه و در مولفه چهارم ویتامین ث به تنهایی قرار گرفتند و کمترین تاثیر را در توجیه فاصله ژنتیکی ژنوتیپ‌ها داشتند (جدول ۶).

جدول ۵- مقادیر ویژه، واریانس و درصد تجمعی واریانس در هر مولفه

Table 5- Eigenvalue and percent of variance determination in each component

مولفه Component	مقادیر ویژه Eigenvalue values	درصد واریانس (Variance %)	درصد تجمعی Cumulative (%)
1	2.89	26.29	26.29
2	2.4	21.86	48.15
3	1.59	14.46	62.61
4	1.07	9.76	72.37

جدول ۶-تجزیه به مولفه های اصلی با استفاده از صفات کمی مورد مطالعه در ۲۵ ژنوتیپ زرشک وحشی

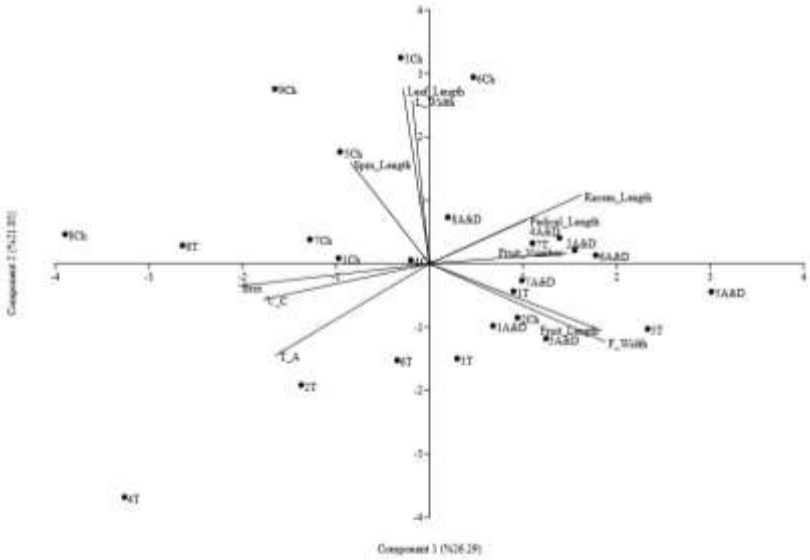
Table 6- Principle component analysis using studied traits in 25 wild genotypes of barberry

صفت Trait	مولفه اول First component	مولفه دوم Second component	مولفه سوم Third component	مولفه چهارم fourth component
طول برگ * Ll	0.730	0.053	-0.359	-0.224
عرض برگ Lw	0.692	0.258	0.234	-0.024
طول میوه Fl	-0.658	0.483	-0.260	0.034
عرض میوه Fw	-0.784	0.270	0.134	0.116
تعداد میوه Fn	-0.095	0.084	0.857	-0.195
طول خار Tl	0.552	0.143	-0.337	-0.160
طول دمگل Pl	-0.001	0.901	-0.124	-0.237
طول خوشه Rl	0.046	0.823	0.265	0.164
ویتامین ث Vitamin c	0.281	0.153	0.156	0.698
اسید قابل تیتراسیون T.A.	-0.194	0.751	-0.424	0.114
مواد جامد محلول TSS	-0.324	0.518	-0.224	-0.274

* Abbreviations: Leaf length= Ll, Leaf width= Lw, Berries per raceme= Bpr, Fruit Pedicel Length= Fpl, Fruit width= Fw, Fruit length= Fl, Spine length= Sl, Raceme Length= RL

هرچند کیفیت پلات تجزیه عاملی تنها ۴۸/۱۵ درصد است، اما ژنوتیپ‌ها به نحو مطلوب و معنی‌داری در پلات پراکنده شده‌اند، بیشتر ژنوتیپ‌ها با موقعیت جغرافیایی یکسان در پلات، در نزدیکی هم قرار گرفته‌اند (شکل ۲). این امر نشان دهنده موثر بودن شرایط محیطی رویش ژنوتیپ‌ها یافت شده در تشکیل فاصله و تنوع ژنتیکی می‌باشد. هر یک از ارقام طالقان و چالوس در نزدیکی هم قرار دارند و یکنواختی توزیع ژنتیکی در محیط‌های مذکور برای ژنوتیپ‌های یافت شده بومی را بیان می‌کنند. در پژوهشی، نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل مولفه‌های اصلی و تجزیه خوشه‌ای نشان داد که گونه *Mahonia aquifolium* در فاصله‌ای دور از دیگر نمونه‌های زرشک و در گروهی کاملا مجزا قرار گرفته است که می‌تواند تایید کننده تفکیک صحیح و کارایی این نوع تجزیه (مولفه‌های اصلی) باشد

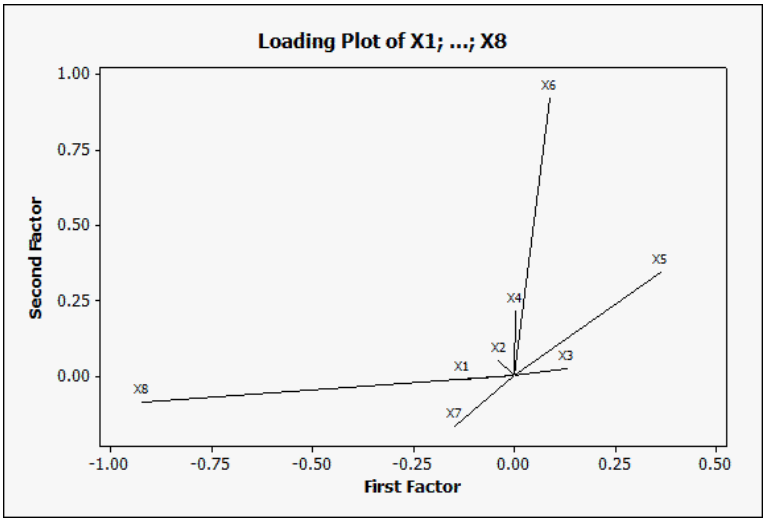
(Heidari *et al*., 2009). بـر اسـاس بررسـی‌هـای مورفولـوژیکی مشخص شده است که جنس ماهونیا از جنس زرشک جدا شده اسـت و رابطـه خویشـاوندی بـا آن در هالـه‌ای از ابهـام قـرار گرفتـه اسـت (Khayyat and Mahmudabadi, 2010). همچنـین گـزارش شـده است که زرشک منطقه کـلات فاصـله زیـادی بـا دیگـر نمونـه‌هـای جمع‌آوری شده از منطقه خراسان دارد که نیاز به مطالعات گیاه‌شناسی بیشتر برای شناسایی دقیق آن می‌باشد (Heidari *et al*., 2009).



شکل ۲– گروه‌بندی ژنوتیپ‌های وحشی زرشک بر اساس روش فاکتورهای اصلی

Figure 2- Grouping of wild barberry genotypes based on the main factors method

بررسی صفات با استفاده از پلات تجزیه عاملی، صفت طول برگ را به عنوان صفتی با تاثیر بالا در ایجاد واریـانس در بـین ژنوتیـپ‌هـا معرفی کرد و پس آن صفت طول میوه بیشـترین واریـانس را از خـود نشان داده‌است، کمترین تاثیر را در ایجـاد اخـتلاف بـین ژنوتیـپ‌هـا، صفات طول خوشه و تعداد حبه در خوشه داشته‌اند (شکل ۳).



شکل ۳– رابطه بین صفات با استفاده از روش تجزیه به فاکتورهای اصلی

(X1) طول خار؛ (X2) طول خوشه؛ (X3) تعداد حبه در خوشه ؛ (X4) طول دمگل؛ (X5) عرض میوه؛ (X6) طول میوه؛ (X7) عرض برگ؛ (X8) طول برگ

Figure 3- The relationship between traits using analysis the main factors method

Spines length= X1; Raceme Length= X2; Berries per raceme= X3; Pedicel Length= X4; Fruit width= X5; Fruit length= X6; Leaf width=X7; Leaf length=X8

همبستگی صفات

برای درک رابطه منطقی بین صفات از همبستگی استفاده می‌شود. همبستگی روش مناسبی جهت مطالعه صفاتی است که اندازه‌گیری آن‌ها به راحتی امکان‌پذیر نیست. همبستگی مثبت و منفی معنی‌دار بین تعدادی از صفات مورد مطالعه در این پژوهش در جدول ۷ نشان داده شده است. بیشترین همبستگی مثبت و معنی‌دار بین میزان ویتامین ث میوه و طول دمگل، عرض برگ و بطور کلی با زیست توده درختان است و این قابل توجه است که درختان قوی تر با برگ‌های بزرگتر میزان ویتامین ث بیشتری تولید می‌کنند. همچنین مواد جامد محلول در میوه نیز همبستگی مثبت و معنی‌داری با طول و عرض برگ، طول خار و طول دمگل دارد. اسید قابل تیتراسیون هم همبستگی مثبت و معنی‌داری با طول خار، طول میوه و طول دمگل دارد. همچنین هم همبستگی مثبت و معنی‌داری بین صفات طول دمگل و طول خوشه وجود داشت. با توجه به این نتایج ژنوتیپ‌هایی که طول دمگل بلندتری دارند دارای طول خوشه بلندتری نیز می‌باشند (جدول ۳). صفات طول برگ و عرض میوه دارای رابطه معنی‌دار، معکوسی هستند به نحوی که با افزایش طول برگ، عرض میوه کاهش یافته است، احتمالا از این صفت بتوان به عنوان یک نشانگر مورفولوژیک در تشخیص ابعاد میوه در ارقام مختلف زرشک بومی استفاده نمود. طول میوه با عرض میوه دارای همبستگی مثبت و معنی‌داری هستند به این معنی که در ارقام با افزایش طول میوه، عرض میوه نیز افزایش می‌یابد و شکل میوه در ابعادی یکنواخت حفظ می‌شود (جدول ۷). محققان دیگر نیز همبستگی مثبت معنی‌داری بین طول و عرض میوه زرشک را گزارش کرده‌اند (Akbulut *et al.*, ; Alizadeh and Hassanpour, 20172009). با توجه به همبستگی بین صفات می‌توان عنوان داشت، صفاتی که اندازه‌گیری شده‌اند می‌توان در برنامه‌های اصلاحی برای افزایش و یا کاهش یک صفت مشخص از تغییر در سایر صفات نیز بهره برد.

جدول ۷- ضرایب همبستگی بین صفات مختلف ژنوتیپ¬های زرشک وحشی

Table 7- Correlation coefficients between different traits of barberry genotypes

صفات Traits	Sl	Rl	خوشه Bnr	Pl	Fw	Fl	Lw	Ll	TSS	Vit. C	T.A.
طول خار Sl	1										
طول خوشه RL	-0.083	1									
تعداد حبه در خوشه Bpr	-0.144	0.183	1								
طول دم‌گل PL	0.111	0.631**	-0.025	1							
عرض میوه FW	-0.356	0.179	0.117	0.123	1						
طول میوه FL	-0.090	0.174	0.066	0.393	0.579**	1					
عرض برگ LW	0.352	0.155	.030	0.143	-0.204	-0.339	1				
طول برگ Ll	0.321	0.040	-0.286	0.020	-0.615**	-0.262	0.340	1			
مواد جامد محلول TSS	0.747**	0.220	0.13	0.68**	0.23	0.14	0.790**	0.610**	1		
Vitamin C ویتامین ث	0.686**	0.440*	0.757**	0.948**	0.310	0.270	0.976**	0.690**	0.002	1	
اسید قابل تیتراسیون T.A.	0. 959**	0.250	0.256	0.747**	0.210	0.710**	0.170	0.080	0.00	0.020	1

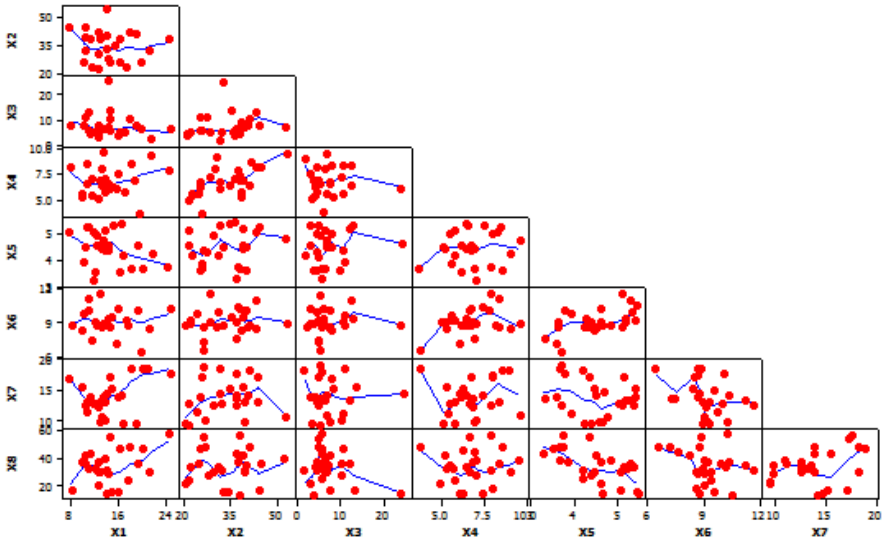
** و * به ترتیب معنی‌دار شدن در سطح احتمال ۱ درصد و ۵ درصد

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

Abbreviations: Leaf length= Ll, Leaf width= Lw, Berries per raceme= Bpr, Fruit Pedicel Length= Fpl, Fruit width= Fw, Fruit length= Fl, Spines length= Sl, Raceme Length= RL

ژنوتیپ‌های زرشک (دانه دار) دارای میوه بزرگ تر به دلیل بذور و احیانا گوشت میوه و آب میوه بیشتر (در سایر ریز میوه‌ها بذور به دلیل تولید تنظیم کننده‌های رشد موجب رشد حبه نیز می‌شوند) دارای مرغوبیت بالاتری بوده و از اهمیت اقتصادی بالاتری برخوردار هستند. شاید بتوان برای افزایش اندازه و وزن میوه صفاتی مانند طول خوشه را افزایش داد در حالی که صفاتی مانند طول دمبرگ و طول خار را به عنوان نشانگر ریخت‌شناسی کاهش داد. به نظر این همبستگی منطقی می‌نماید چرا که طول خار با صفت وحشی بودن (wild types) همراه است عموما با اهلی شدن ژنوتیپ‌ها خار کمتر و یا پهنک برگ بزرگتر و دمبرگ کوتاه‌تر همراه است که در ارقام تجاری بسیاری گونه‌ها مانند آلوها و زردآلو صادق است.

شکل ۴، نمایان‌گر ارتباط دو به دوی صفات و پراکنش ژنوتیپ‌ها در داخل و درون آن‌ها می‌باشد. همبستگی مثبت بین صفات طول‌دمگل و طول‌خوشه و همبستگی منفی بین صفات عرض میوه و طول برگ بیان کننده ارتباط شدید این دو صفت در تشکیل فاصله ژنتیکی ژنوتیپ‌ها است و اهمیت آنها در ایجاد واریانس در بین ژنوتیپ‌ها است.



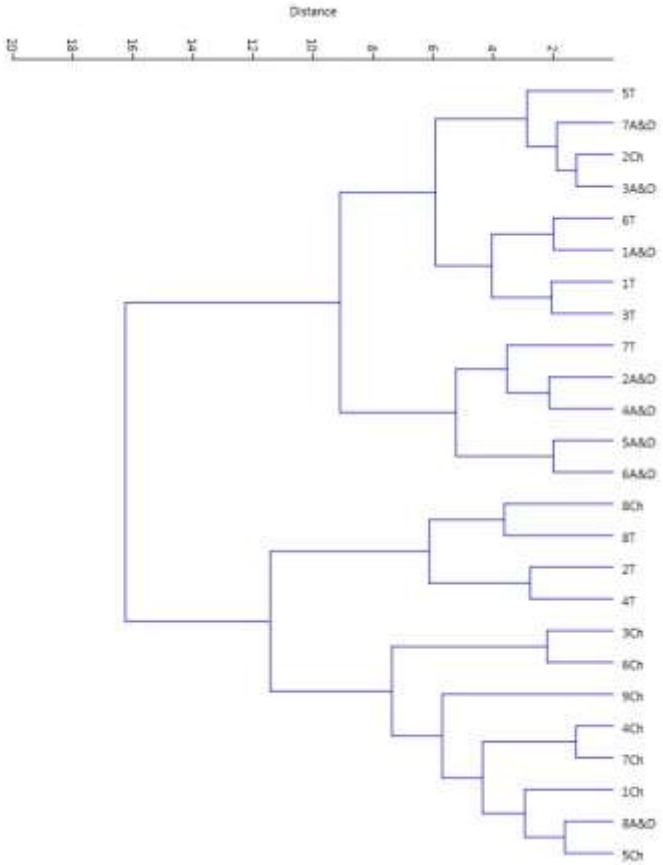
شکل ۴- گروه‌بندی ژنوتیپ‌های وحشی زرشک با توجه به صفات مختلف و همبستگی حاصل از آن

(X1) طول خار؛ (X2) طول خوشه؛ (X3) تعداد حبه در خوشه ؛ (X4) طول دمگل؛ (X5) عرض میوه؛ (X6) طول میوه؛ (X7) عرض برگ؛ (X8) طول برگ

Figure 4- Grouping of wild barberry genotypes according to different traits and the resulting correlation

Spines length= X1; Raceme Length= X2; Berries per raceme= X3; Pedicel Length= X4; Fruit width= X5; Fruit length= X6; Leaf width=X7; Leaf length=X8

هدف از تجزیه کلاستر تعیین شباهت‌ها و تفاوت‌های بین ژنوتیپ‌ها وحشی زرشک مورد مطالعه در این پژوهش بود. تجزیه کلاستر ژنوتیپ‌های زرشک بر اساس صفات مورفولوژیکی در فاصله ۶/۲ اقلیدسی ژنوتیپ‌های زرشک وحشی را به پنج گروه اصلی تفکیک نمود (شکل ۵). در گروه یک ژنوتیپ‌های ارتفاعات مختلف در مسیر جاده چالوس، خوزنکلا و آسارا در زیر گروه‌های مشابه قرار گرفتند که نشانگر نزدیکی جغرافیایی و منشا احتمالی یکسان است. ژنوتیپ¬های گروه یک بالاترین طول و عرض میوه، طول و عرض برگ و طول خار را داشتند. در گروه سه ژنوتیپ‌های طالقان (۲، ۴ و ۸) و چالوس ۸ در زیر گروه‌های مشابه قرار گرفتند و همچنین در گروه چهار و پنج ژنوتیپ‌هایی از جاده چالوس (بجز یک ژنوتیپ) قرار دارند. همگی موید این موضوع است که ژنوتیپ‌های با نزدیکی مکانی بدلیل منشا احتمالی یکسان دارای تشابه بیشتر هستند. ژنوتیپ‌های یک گروه بر اساس ویژگی‌های ریخت شناسی ممکن است به چند زیر گروه تقسیم شوند (Kafi and Balandary, 2002) البته تاثیر عوامل محیطی در بروز این صفات را نباید نادیده گرفت (Rezaei *et al.*, 2011). با توجه به نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر مشخص شد که ژنوتیپ‌هایی که دارای شباهت بیشتری بوده‌اند ممکن است قرابت بیشتری با هم داشته باشند یا از نظر شرایط آب و هوایی محیط رشد مشابه باشند. تجزیه کلاستر ژنوتیپ‌های مختلف زرشک بیانگر وجود تنوع بالا در بین آن‌ها می‌باشد (Alizadeh and Hassanpour, 2017) که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت داشت. در تحقیقی مشابه، نمونه‌های زرشک بی دانه *B. vulgaris* فاصله قابل توجهی با سایر نمونه‌های وحشی مورد مطالعه نداشت و در یک گروه قرار داشتند (Kafi and Balandary, 2002).



شکل ۵– گروه بندی ژنوتیپ‌های وحشی زرشک بر اساس روش Average linkage (Between groups)

Figure 5- Dendrogram of grouping wild barberry genotypes based on Average linkage (Between groups) method

این تحقیق در نمونه های زرشک دانه‌دار که نماینده بخش قابل توجهی از ژرم پلاسم وحشی دامنه های جنوبی البرز است، بیانگر تنوع مورفولوژیکی بالا در بین ژنوتیپ‌هاست که گزارش بوتینی و همکاران (Bottini *et al.*, 2000) در ارتباط با تنوع فنوتیپی بالا در زرشک را تایید می‌کند. افزایش تنوع در میان گیاهان مهم‌ترین عامل در تهیه برنامه‌های اصلاحی و تولید ارقام جدید با صفات مطلوب و اقتصادی است. بررسی تنوع ژنتیکی این امکان را فراهم می‌آورد که بتوان هیبریدهای قوی‌تر را از مسیرهایی راحت‌تر فراهم کرد. در این میان ژنوتیپ‌های طالقان ۴، چالوس ۸ و طالقان ۸ با بیشترین میزان ویتامین ث و طالقان ۵ با بیشترین اندازه میوه می‌توانند به عنوان والد در برنامه‌های اصلاحی قابل اهمیت باشند.

شکل ۶– زرشک ژنوتیپ طالقان دو (راست) و طالقان چهار (چپ)

Figure 6- Barberry genotypes from Talegan2 (right) and Talegan 4 (left)

منابع

1- Ahmadi K., Ebadzadeh H.R., Hatami F., Hossinpoor and R. Abdshah H. 2019. Agriculture Statistics of Iran- third dimension-Horticultur crops. (In Persian)

2- Ahmed M., Anjum M.A., Naz R. M.M., Khan M.R., and Hussain S. 2013. Characterization of indigenous barberry germplasm in Pakistan: variability in morphological characteristics and nutritional composition, Fruits 68: 409-422. DOI: https://doi.org/10.1051/fruits/2013085.

3- Akbulut M., Çalis S., Marakoglu T., and Çoklar H. 2009. Some physico-mechanical and nutritional properties of Barberry (*Berberis vulgaris* L.), Journal of Food Process Engineering 32: 497-511. DOI: https://doi.org/10.1111/j.1745-4530.2007.00229.x.

4- Alizadeh Sh., and Hassanpour H. 2017. Evaluation of fruit morphological properties of some wild barberry (*Berberis spp.*) genotypes in West Azerbaijan, Iranian Journal of Horticultural Science 48: 27-37.

5- Anderson G.J., Bernardello G., Stuessy, T.F., and Crawford D.J. 2001. Breeding system and pollination of selected plants endemic to Juan Fernandez Islands. American Journal of Botany 88: 220-233. https://doi.org/10.2307/2657013.

6- A.O.A.C. 2002. Vitamin C (ascorbic acid) in vitamin preparations and juices: 2, 6 dichloroindophenol titrimetric method final action. In W. Horwitz (Ed.), Official Methods of Analysis of AOAC International, 17th ed. Gaithersburg, MD: Association of Official Analytical Chemists Official Method 967, 21.

7- Blumenthal M. 1998. The complete German Commission E Monographs: Therapeutic Guide to Herbal Medicines, Austin: American Botanical Council.

8- Bottini M.C.J., De Bustos A., Jouve N., and Poggio L. 2002. AFLP characterization of natural populations of Berberis (Berberidaceae) in Patagonia, Argentina, Plant Systematic and Evolution Journal 133-142. https://doi.org/10.1007/s006060200015.

9- Bottini M.C.J., Greizerstein E J., Aulicino M.B., and Poggio L. 2000. Relationships among genome size, environmental conditions and geographical distributions in natural populations of NW patagonian species of *Berberis*, Annals of Botany 86(3): 565-573. https://doi.org/10.1006/anbo.2000.1218.

10- Cadic A. 1992. Breeding for ever-red barberries (*Berberis* spp.), Acta Horticulturae 320: 85-90. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1992.320.11

11- Duke J.A. 2002. Hand book of Medicinal Herbs, Second Edition Boca Raton, FL: CR cpress, 899.

12- Eftekhari A., Hasandokht M.R., Fatahi moghaddam M.R., and Kashi K. 2010. Genetic diversity of Iranian spinach genotypes (*Spinacia oleracea* L.) using morphological traits. Iranian Journal of Horticultural Science 83-93. (In Persian with English abstract)

13- Farhadi-Chitgar M., and Shahidi F. 2014. Evaluation of physical and chemical properties of three Iranian native barberries, Journal of Food Research 24: 63-76. (In Persian with English abstract)

14- Fenech M., Amaya I., Valpuesta V., and Botella M.A. 2019. Vitamin C Content in Fruits: Biosynthesis and Regulation. Review, Frontiers in Plant Science 9: 1-21. http:// doi.org/10.3389/fpls.2018.02006.

15- Heidary S., Marashi H., Farsi M., and Mirshamsi-Kakhki A. 2009. Assessment of variation in wild and cultivated *Berberis* populations of Khorasan provinces using morphological markers and comparing to data resulted from AFLP markers, Journal of Iranian Agronomic Investigations 7: 401–410. (In Persian with English abstract)

16- Kafi M., and Balandary A. 2002. *Berberis*: Production and Processing, Zaban va adab Press Iran, p. 1-209. (In Persian with English abstract)

17- Kim Y.D., and Jansen R.K. 1994. Characterization and phylogenetic distribution of a chloroplast DNA rearrangement in the Berberidaceae, Plant Systematic and Evolution 193: 107-114. https://doi.org/10.1007/BF00983544.

18- Khayyat M., and Mahmudabadi M. 2010. Effect of Mangenez, boron, potassium and zinc sprays on yield and fruit quality of barberry. First international barberry and jujube congress Birjand, Iran. (In Persian with English abstract)

19- Kremer D., Grubesic R., Popovic Z., and Karlovic K. 2012. Fruit and seed traits of Berberis croatica Horvat and *Berberis vulgaris* L., Acta Botanica Croatica 7(1): 115-123. https://doi.org/10.2478/v10184-010-0028-z.

20- Mezzetti B., Balducci F., Capocasa F., Zhong C.F., Cappelletti R., Di Vittori L., Mazzoni L., Giampieri F., and Battino M. 2016. Breeding strawberry for higher phytochemicals content and claim it: is it possible, Int. Journal Fruit Science 16: 194–206. https://doi.org/10.1080/15538362.2016.1250695.

21- Naghavi M., Gharehyazi B., and Hoseini Salkadeh Gh. 2007. Molecular Markers. Tehran University Publishment, Tehran. (In Persian with English abstract)

22- Peterson Jr P.D. 2003. The common barberry: the past and present situation in Minnesota and the risk of wheat stem rust epidemics USA. (Ph.D. thesis).

23- Rezaei M., Ebadi A., Reim S., Fatahi R., Balandary A., Farrokhi N., and Magda Viola H. 2011. Molecular analysis of Iranian seedless barberries via SSR, Scientia Horticulturae 129: 702-709. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2011.05.021.

24- Rezaei M., Sarkhosh A., and Balandari A. 2020. Characterization of Valuable Indigenous Barberry (*Berberis* sp.)

Germplasm by Using Multivariate Analysis, International Journal of Fruit Science 20(1): 1–19. https://doi.org/10.1080/15538362.2018.1555508.

25- Sun X., Zhang X., and Hu H. 2009. Berberine inhibits hepatic stellate cell proliferation and prevents experimental liver fibrosis, Biological and Pharmaceutical Bulletin 32(9): 1533–1537. https://doi.org/10.1248/bpb.32.1533.

26- Tahan Z., and Danaee H. 2012. Analysis of the Factors Affecting the Marketing of Exports, Case Study of Barberry, Commercial Reviews 55(4): 72-87. (In Persian)

27- Talebi S., Alizadh M., Ramezanpour S.S., and Ghasemnejad A .2020. Study of morphological characteristics of different *Berberis* spp. genotypes in northeast of Iran, Journal of Plant Production 27(1): 75–91. DOI: 10.22069/JOPP.2020.15524.2396.

28- Yildiz H., Ercisli S., Sengul M., Topdas E.F., Beyhan O., Cakir O., Narmanlioglu H.K., and Orhan E. 2014. Some physicochemical characteristics, bioactive content and antioxidant characteristics of non-sprayed barberry (*Berberis vulgaris* L.) fruits from Turkey. Erwerbs -Obstbau 56: 123 -129. https://doi.org/10.1007/s10341-014-0216-4.

29- Yilmaz K.U., Zengin Y., Ercisli S., Orhan E., Yalcinkaya E., Taner O., and Erdogan A. 2009. Biodiversity, exositu conservation and characterization of Cornelian Cherry (*Cornus mas* L.) genotypes in Turkey. Biotechnol Biotechnol Equipment 23(1): 1143-1149.

30- Yin J., Xing H., and Ye J. 2008. Efficacy of berberine in patients with type 2 diabetes mellitus, Metabolism: Clinical and Experimental 57(5): 712–717. https://doi.org/10.1016/j.metabol.2008.01.013.

Journal of Horticultural Science
https:// jhs.um.ac.ir

Research Article
Vol. 36, No. 1, Spring 2022, p. 193-212

Effect of Putrescine and Nitric Oxide on Morphological, Biochemical and Postharvest Characteristics of Rose 'Avalanche'

R. Abdi[1]- Z. Jabbarzadeh[2*]

Received: 12-04-2021
Revised: 24-04-2021
Accepted: 30-05-2021
Available Online: 20-06-2022

How to cite this article:
Abdi R., and Z. Jabbarzadeh. 2022. Effect of Putrescine and Nitric Oxide on Morphological, Biochemical and Postharvest Characteristics of Rose 'Avalanche'. Journal of Horticultural Science 36(1): 193-212. (In Persian with English abstract)
DOI: 10.22067/JHS.2021.69604.1036

Introduction

The genus *Rosa* from the family Rosaceae with over 150 species is one of the most important ornamental plants in the world. From a commercial point of view, cut roses play a key role in trade of cut flowers. Nitric oxide regulates key physiological processes that depend on the concentration of this compound such as hypocotyls growth, defensive responses, growth and development, photosynthesis, and phytoalexin generation in stressful conditions. Polyamines are key biomolecules that have a role to play in the regulation of many plants' growth and development processes and their responses to different environmental stimuli. This study was performed to investigate the effect of foliar application of sodium nitroprusside (as a NO donor) and putrescine (as a polyamine) on 'Avalanche' rose in hydroponic conditions.

Materials and Methods

This study was conducted in the research and production greenhouses of Urmia University and the research laboratory of the Department of Horticultural Sciences of the Faculty of Agriculture in 2019-2020 on rose (*Rosa hybrida* 'Avalanche). This experiment was conducted as a factorial trial based on completely randomized design with two factors including sodium nitroprusside in four concentrations of 0, 50, 100 and 200 µM and putrescine in four concentrations of 0, 1, 2 and 4 mM with 3 replications as a foliar application under hydroponic conditions in greenhouses and in pots. The treatments were applied two weeks after transplantation, every 15 day-interval for 4 months. In order to investigate the effects of putrescine and sodium nitroprusside on some morphological and physiological characteristics of plants, two weeks after the end of treatments, sampling was performed to measure morphological and physiological characteristics. The measured indicators included: fresh and dry weight of flowering stem, chlorophyll a, b and total chlorophyll, carotenoids and also in the postharvest stage were guaiacol peroxidase and ascorbate peroxidase enzymes activity and bending of flowering stem. The SAS software version 9.2 was used to analyze the variance and compare the mean of the studied traits. Comparison of means was performed using the Tukey's range test method at a probability level of 1 and 5%. Also, Excel (2016) software was used to draw the graph.

Results

According to the means comparison of measured parameters, sodium nitroprusside along with putrescine increase the flowering stem fresh and dry weight, photosynthetic pigments of leaves and antioxidant enzymes activities at the postharvest stages. Sodium nitroprusside at a concentration of 50 µM with 4 mM putrescine increased the fresh and dry weight of the flowering stem. Also, the concentration of 100 µM sodium nitroprusside with 4 mM putrescine significantly increased chlorophyll a, b, total chlorophyll and carotenoid content compared to control. It should be noted that preharvest application of sodium nitroprusside along with putrescine cause to improve postharvest characteristics of rose. In this research, application of 100 and 200 µM

1 and 2- M.Sc. Graduated Student and Associate Professor of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: Z.Jabbarzadeh@urmia.ac.ir)

SNP alone or with different concentrations of putrescine increased guaiacol peroxidase and ascorbate peroxidase activity and reduced bending of flowering stem of rose 'Avalanche' at the postharvest stage. Probably polyamines (such as putrescine) and nitric oxide increase photosynthesis potential with increasing photosynthetic pigments and protecting cell membranes thus increase growth and flowering traits of plants such as increasing the flowering stem weight of rose in this research. At postharvest stage, senescence of flowers is an inevitable phenomenon that cause to produce free radicles in plants. Free radicles injure the plant membranes lipids and change the antioxidant enzymes activities. This despite the fact that nitric oxide and putrescine protect antioxidant enzymes against free radicles as a result can improve vase life of rose.

Conclusion

Based on the results of the present study, it can be concluded that putrescine, with SNP, improves growth characteristics as well as increases the postharvest traits and quality of cut flowers of rose. According to the results, it is observed that among the different concentrations of putrescine, the concentration of 4 mM had the greatest effect on the growth and physiological parameters of rose while the concentration of 100 and 200 µM sodium nitroprusside had a greatest effect on physiological characteristics and postharvest traits of rose. In general, both SNP and putrescine had a positive and favorable effects on improving growth and postharvest indices, but the effective concentration varied depending on the type of parameter.

Keywords: Antioxidant enzymes, Polyamine, Sodium nitroprusside, Stem neck

نشریه علوم باغبانی
https:// jhs.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۶، شماره ۱، بهار ۱۴۰۱، ص ۲۱۲-۱۹۳

تأثیر پوترسین و نیتریک‌اکسید بر بهبود ویژگی‌های مورفولوژیکی، بیوشیمیایی و پس‌ازبرداشت رز رقم 'آوالانچ'

رقیه عبدی[۱]- زهره جبارزاده[۲*]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۱/۲۳
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۳/۰۹

چکیده

گل رز (*Rosa hybrida* 'Avalanche') یکی از گل‌های بریدنی مهم دنیاست. به‌منظور بررسی تاثیر محلول‌پاشی سدیم نیتروپروساید (به‌عنوان منبع نیتریک‌اکسید) و پوترسین بر گل رز رقم 'آوالانچ' پژوهشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در شرایط کشت هیدروپونیک به صورت گلدانی در گلخانه اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل چهار غلظت سدیم نیتروپروساید (صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار) و چهار غلظت پوترسین (صفر، ۱، ۲ و ۴ میلی‌مولار) بود. شاخص‌های اندازه‌گیری شده شامل وزن تر و خشک ساقه گل‌دهنده، کلروفیل a, b و کلروفیل کل، کاروتنوئید و در مرحله پس از برداشت آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز و خمیدگی ساقه بودند. سدیم نیتروپروساید در غلظت ۵۰ میکرومولار همراه با پوترسین ۴ میلی‌مولار، وزن تر و خشک ساقه گلدهنده را نسبت به شاهد افزایش داد. غلظت ۱۰۰ میکرو مولار سدیم نیتروپروساید همراه با کاربرد ۴ میلی‌مولار پوترسین باعث افزایش معنی‌دار میزان کلروفیل a, b و کلروفیل کل و کاروتنوئید نسبت به شاهد شد. لازم به ذکر است که کاربرد قبل از برداشت سدیم‌نیتروپروساید و پوترسین در بهبود ویژگی‌های پس از برداشت گل رز نیز تاثیر مثبت داشت، به‌طوری که بیشترین میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز) و کمترین خمیدگی ساقه در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید به تنهایی و یا همراه با کاربرد پوترسین مشاهده شد. به‌طور کلی، سدیم‌نیتروپروساید و پوترسین تاثیر مثبت و مطلوبی در بهبود شاخص‌های رشدی و پس از برداشتی گل رز داشتند ولی غلظت موثر بسته به نوع شاخص متفاوت بود.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، پلی‌آمین، خمیدگی ساقه، سدیم‌نیتروپروساید

مقدمه

گل رز یکی از محبوب ترین گل‌ها در بین گل‌های شاخه بریده است. جنس *Rosa* یکی از گسترده‌ترین اعضای خانواده Rosaceae می‌باشد که بیش از ۱۰۰ گونه دارد (Bhattacharjee and Banerji, 2010).

سدیم نیتروپروساید یک ترکیب آزاد کننده نیتریک اکسید است که از ترکیب نیتروژن معدنی با فرمول $Na_2[Fe(Cn)_5NO].\ 2H_2O$ بدست می‌آید و یکی از مولکول‌های مهم سیگنال دهنده محسوب می شود (Hemati *et al.*, 2019) که هم دارای خاصیت پراکسیدانی و هم آنتی‌اکسیدانی است (Singh *et al.*, 2020). همچنین نقش بسیار مهمی در فرآیندهای رشدی (جوانه‌زنی بذر، رشد ریشه، برگ‌ها و گلدهی)، پاسخ های دفاعی، فتوسنتز و بستن روزنه‌ها دارد (Gohari *et al.*, 2020, Sami *et al.*, 2017). پاسخ‌های مختلف ناشی از تنش‌های محیطی (دما، مواد شیمیایی، شوری و تنش‌های اکسیداتیو) در گیاهان را می‌توان با این مولکول کنترل کرد (Shi *et al.*, 2017).

پلی آمین‌ها ترکیباتی با وزن مولکولی کم، آلیفاتیک حاوی دو یا چند گروه آمینه هستند و فعالیت بیولوژیکی زیادی دارند (Vuosku *et al.*, 2018). پلی آمین‌ها به طور گسترده در سلول‌های یوکاریوتی و پروکاریوتی وجود دارند و در گیاهان عالی، به طور عمده به شکل آزاد

۱ و ۲- به‌ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گیاهان زینتی و دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email:Z.Jabbarzadeh@urmia.ac.ir)
DOI: 10.22067/JHS.2021.69604.1036

وجود دارند. پوترسین، اسپرمین و اسپرمیدین از عمده ترکیبات در گیاهان هستند که در تنظیم فرآیندهای متنوع فیزیولوژیکی نقش مهمی دارند (Chen *et al.*, 2019).

در آزمایشی که توسط مستوفی و همکاران (Mostofi *et al.*, 2010) بر اثرات غلظت های مختلف سدیم نیتروپروساید در محلول گلجای بر گل شاخه بریده میخک[1] رقم 'Nelson' انجام شد، غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید باعث حفظ کلروفیل برگ و استحکام ساقه گل شدند. در آزمایشی که به بررسی تاثیر سدیم نیترو پروساید بر لاله واژگون[2] انجام گرفت، نتایج نشان داد که سدیم نیتروپروساید باعث افزایش وزن کل گیاه، طول، قطر گل‌آذین و پیازها شد (Salachna and Zawadzińska, 2018). در پژوهشی که به بررسی تاثیر اسید سالسیلیک، سدیم نیتروپروساید و اتانول بر دو رقم گل شاخه بریده ژربرا[3] انجام شد نتایج نشان دادند که اتانول به همراه سدیم نیتروپروساید بصورت جذب محلول گلجای و اسید سالسیلیک بسته به غلظت و رقم مورد مطالعه در عمر گل تاثیر داشته، به طوری‌که کمترین خمیدگی در هر دو رقم به ترتیب در غلظت ۲ درصد اتانول، ۱۵۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید و ۲۰۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک حاصل شد (Karamiyan, 2019). نتایج طالبی (Talebi, 2011) نشان داد که تیمار ۴۰ میکرومول در لیتر سدیم نیتروپروساید بصورت گلجای، کلروفیل b را در گل رز افزایش داد ولی مقدار کلروفیل a در ۶۰ میکرومول در لیتر بیشتر بود. در آزمایشی که بر گیاهان سوسن شرقی[4] انجام گرفت نتایج نشان داد که ارتباط قابل توجهی بین محتوای کلروفیل و سطح سدیم نیتروپروساید وجود دارد، به‌نحوی‌که، تیمار نیتریک اکسید در غلظت مناسب اثر تشویقی برمیزان کلروفیل برگ دارد (Wang *et al.*, 2015). در آزمایشی که تاثیر سدیم نیتروپروساید به عنوان محلول نگهدارنده در غلظت ۱۵۰ میکرومولار در دو زمان ۲۴ و ۴۸ ساعته در رقم‌های 'Bayadere' و 'Sunway' ژربرا انجام شد نتایج نشان داد که استفاده از سدیم نیتروپروساید باعث افزایش آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز گیاهان تحت تیمار شد (Shabanian *et al.*, 2018). در آزمایشی که روی محلول‌پاشی گل رز شاخه بریده با اسیدآبسیزیک و سدیم نیتروپروساید انجام شد نتایج نشان دادند که اسید آبسیزیک و سدیم‌نیترپروساید، محتوی کلروفیل برگ را به طور موثری افزایش دادند و همچنین باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز شد (Deng *et al.*, 2019).

در پژوهشی، تاثیر اسید هیومیک و پوترسین بر ویژگی‌های رویشی و عمر گل‌جایی گل رز بررسی شد، نتایج نشان دادند که اسید هیومیک به همراه پوترسین به صورت محلول‌پاشی برگی در غلظت های ۲ و ۴ میلی‌مولار موجب افزایش وزن تر و خشک ساقه، سطح برگ و ارتفاع گیاه شد (Dastyaran and Hosseini Farahi, 2014). در گیاه همیشه بهار[5] کاربرد پوترسین در غلظت‌های صفر، ۱و ۲ میلی‌مولار به صورت محلول‌پاشی برگی باعث بهبود ویژگی‌های مورفولوژیکی (وزن تر و خشک گل)، بیوشیمیایی و رنگیزه‌های گیاه (کلروفیل a, b، کل و کاروتنوئید) شد (Bani Assadi *et al.*, 2015). بررسی تاثیر پوترسین در غلظت‌های صفر، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌مولار در به تعویق انداختن پیری گل شاخه بریده لیزیانتوس[6] نشان داد که تیمار پوترسین، فعالیت آنزیم کاتالاز و آسکوربات‌پراکسیداز را افزایش و تجمع پراکسیدهیدروژن را در طول عمر گلجای کاهش داد (Ataii *et al.*, 2015). نتایج حاصل از بررسی انواع پلی‌آمین‌ها بر داوودی[7] نشان داد که مقدار کلروفیل در همه تیمارهای پوترسین افزایش یافت (Kamiab and Zamani Bahramabadi, 2016). بررسی اثر پلی-آمین‌ها بر برخی ویژگی‌های گل شاخه بریده رز نشان داد که پلی-آمین‌ها باعث افزایش فعالیت فنیل آلانین آمونیالیاز و همچنین آنزیم-های آنتی اکسیدانی شدند (Danaee and Abdossi, 2018). در آفتابگردان زینتی[8] پوترسین در غلظت‌های ۷۵ و۱۵۰میلی‌گرم در لیتر باعث افزایش وزن تر و خشک ساقه، قطر ساقه و ارتفاع گیاهان در شرایط تنش خشکی شد (Kahrobaiyan *et al.*, 2019).

گل‌ها به دلیل تاثیر بر کیفیت زندگی انسان‌ها مورد توجه می باشند که در بین گل‌ها، گل رز، جایگاه منحصر به فردی را از نظر زیبایی و تجاری به خود اختصاص داده است و از لحاظ میزان تولید در صدر قرار دارد (Bhattacharjee and Banerji, 2010) و با توجه به علایق و اشتیاق انسان به داشتن این گل در تمام فصول سال باعث گردید تا تولید آن در گلخانه‌ها نیز انجام گیرد. از آنجایی‌که نیتریک اکسید و پوترسین در فرآیندهای رشد و نموی گیاهان اثرات مثبتی مانند افزایش فتوسنتز، افزایش جذب آب، افزایش کیفیت و عملکرد گیاه دارند، لذا با توجه به اثر مثبت نیتریک اکسید و پوترسین در بهبود ویژگی‌های کمی و کیفی گیاهان در این پژوهش، به بررسی تاثیر غلظت‌های مختلف نیتریک اکسید و پوترسین به صورت محلول‌پاشی برگی در رز رقم 'آوالانچ' پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

1- *Dianthus caryophyllus*
2- *Eucomis autumnalis*
3- *Gerbera jamesonii*
4- Oriental lily
5- *Calendula officinalis*
6- *Eustoma grandiflorum*
7- *Chrysanthemum morifolium* 'Bright Golden Ann'
8- *Helianthus annuus*

این پژوهش در گلخانه‌های پژوهشی و تولیدی دانشگاه ارومیه و آزمایشگاه تحقیقاتی گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی در سال ۱۳۹۸ اجرا شد. در این پژوهش، تاثیر محلول‌پاشی سدیم نیتروپروساید (به‌عنوان منبع نیتریک اکسید) و پوترسین بر برخی ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی رز رقم 'Avalanche' بررسی شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو فاکتور سدیم نیتروپروساید در چهار غلظت صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار و پوترسین در چهار غلظت صفر، ۱، ۲ و ۴ میلی‌مولار با ۳ تکرار به روش محلول‌پاشی برگی هر دو هفته یکبار روی رز به مدت چهار ماه اجرا شد. به این منظور، از گلدان‌های پلاستیکی، با قطر دهانه ۲۴ و ارتفاع ۲۱ سانتی‌متر استفاده شد. بستر مورد استفاده در گلدان‌ها حاوی سه قسمت پیت ماس، یک قسمت کوکوپیت و یک قسمت پرلیت بود. به منظور تامین مواد غذایی، برنامه غذایی مورد استفاده برای گیاهان، از یک گلخانه تجاری با اندکی تغییرات استفاده شد (pH محلول غذایی روی ۶/۲–۵/۸ تنظیم شد) که میزان کودهای مورد استفاده برای ۲ استوک x ۲۰ (استوک اول کودهای نیترات پتاسیم، نیترات کلسیم، نیترات آمونیوم و آهن و استوک دوم کودهای نیترات پتاسیم، سولفات منیزیم، نیترات منیزیم، مونو پتاسیم فسفات، سولفات منگنز، سولفات مس، سولفات روی، براکس و مولیبدن) تهیه و استفاده گردید. دمای گلخانه در روز ۳۰–۲۸ درجه سانتی‌گراد و در شب ۲۳–۲۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۷۰–۵۰ درصد و شدت نور $500–400 \mu mol.m^{-2}.s^{-1}$ بود. به منظور انجام این پژوهش، ابتدا پایه‌های پیوندی رز رقم 'آوالانچ' تهیه شد و بعد به گلدان‌های مجزا منتقل شدند و پس از استقرار کافی، گیاهان برای محلول‌پاشی آماده شدند. (لازم به ذکر است که رزهای استفاده شده در این پژوهش، دو ساله بودند که برای انجام آزمایش در هر گلدان، بعد از هرس، چهار شاخه به طول تقریبی ۵۰ سانتی‌متر نگه داشته شدند). یک ماه بعد از استقرار کامل گیاهان، محلول‌پاشی برگی با فواصل دو هفته یکبار در اول صبح و به مدت چهار ماه (در مجموع هشت بار محلول‌پاشی) صورت گرفت. (لازم به ذکر است که محلول‌پاشی تیمارها به صورت مجزا از هم انجام شدند).

اندازه‌گیری شاخص‌های قبل از برداشت

وزن تر و خشک ساقه گلدهنده

دو هفته پس از پایان محلول پاشی، وزن تر و خشک ساقه گلدهنده اندازه‌گیری شدند. اندازه‌گیری وزن تر ساقه گلدهنده با استفاده از ترازوی دیجیتال (مدل METTLER, PJ300) و با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم تعیین شد. برای تعیین وزن خشک ساقه گلدهنده، ابتدا نمونه‌ها درون آون با دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفتند و پس از خارج کردن نمونه‌ها، مجددا با استفاده از ترازوی دیجیتال، وزن خشک آن‌ها اندازه‌گیری شد.

میزان کلروفیل و کاروتنوئید برگ

این اندازه‌گیری به روش لیچتنتالر (Lichtenthaler, 1987) انجام گرفت. مقدار ۰/۱ گرم از ماده تر گیاهی (برگ) با ۵ میلی‌لیتر استون ۱۰۰ درصد هموژنایز شد و پس از آن با سرعت ۲۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. عصاره جدا شده فوقانی حاصل از سانتریفیوژ با اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۶ و ۴۷۰ نانومتر مورد قرائت قرار گرفت. در نهایت با استفاده از فرمول‌های زیر میزان کلروفیل a, b و کاروتنوئید بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن‌ترنمونه‌ها محاسبه شد.

$$\text{کلروفیل a} = (12.25A_{663}) - (2.79A_{646})$$

$$\text{کلروفیل b} = (21.21A_{646}) - (5.1A_{663})$$

$$\text{کلروفیل کل} = (\text{Chl a}) + (\text{Chl b})$$

$$\text{کاروتنوئید} = (1000A_{470}) - (1.8\text{Chl a}) - (85.02\text{Chl b})/198$$

بررسی شاخص‌های پس از برداشت

ساقه‌های گل به اندازه ۴۰ سانتی‌متر کوتاه شده و تمامی برگ‌ها، به جز سه برگ بالایی حذف گردیدند. گل‌ها در گلدان‌هایی که حاوی ۵۰۰ میلی لیتر محلول حفاظت کننده شامل ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر HQC همراه با ۲۰ میلی‌گرم در لیتر ساکارز بود، قرار گرفتند. گل‌ها در داخل اتاقک رشد با دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۷۰ درصد و طول دوره روشنایی ۱۲ ساعت با شدت نور ۱۰ میکرومول بر متر مربع بر ثانیه نگهداری شدند. جهت اندازه‌گیری آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز در مرحله پس از برداشت، به فاصله هر ۴ روز یکبار (تا روز ۱۲) نمونه گیری از گل‌ها انجام شد. لازم به ذکر است که آزمایشات این مرحله به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با سه فاکتور سدیم نیتروپروساید در چهار غلظت صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار، پوترسین در چهار غلظت صفر، ۱، ۲ و ۴ میلی‌مولار و زمان در چهار مرحله نمونه‌برداری در روزهای صفر، ۴، ۸ و ۱۲ انجام شد. اندازه گیری های پس از برداشت با ۳ تکرار، هر تکرار شامل یک گلدان و هر گلدان شامل ۳ شاخه گل بریده انجام شد.

خمیدگی ساقه

در پایان روز دوازدهم، خمیدگی ساقه‌ها با استفاده از خط‌کش و نقاله اندازه‌گیری شد.

فعالیت آنزیم‌ها

استخراج عصاره گیاهی برای سنجش فعالیت آنزیم‌ها

برای تهیه عصاره گیاهی جهت تعیین میزان فعالیت آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز، از روش کنگ و سالتویت

(Kang and Saltveit, 2002) با اندکی تغییرات انجام شد.

فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز

فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز با استفاده از روش آپدیهایا و همکاران (Upadhyaya *et al.*, 1985) انجام گرفت. مخلوط واکنش شامل یک میلی‌لیتر گایاکول یک درصد، یک میلی‌لیتر پراکسید هیدروژن یک درصد، ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=7.5) و ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره استخراجی بود. سپس فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز به صورت افزایش جذب طی یک دقیقه در طول موج ۴۲۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر محاسبه شد. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز از ضریب خاموشی (۲۶/۶ $mM^{-1}\ cm^{-1}$) استفاده شد.

$$unit\ \frac{mM}{min} = \frac{do\ D/\min(slope) \times vol.of\ assay}{Extinction\ coefficient\ (26.6)}$$

Extinctiont Coefficient= ضریب خاموشی

(doD/min(slope)= اختلاف دو عدد خوانده شده طی یک دقیقه در دستگاه

Vol of assay= مقدار عصاره در نمونه

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز با استفاده از روش ناکانو و آسادا (Nakano and Asada, 1981) با اندکی تغییرات اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش شامل ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=7) (شامل EDTA ۰/۱ میلی‌مولار، آسکوربات سدیم یک میلی‌مولار) و ۰/۲میلی‌لیتر پراکسید هیدروژن یک درصد و ۰/۱ میلی لیتر عصاره استخراجی بود. سپس فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز به صورت کاهش جذب طی یک دقیقه در طول موج ۲۹۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر محاسبه شد. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز از ضریب خاموشی ($mM^{-1}\ cm^{-1}$ ۲/۸) استفاده شد.

$$unit\ \frac{mM}{min} = \frac{do\ D/\min(slope) \times vol.of\ assay}{Extinction\ coefficient\ (2.8)}$$

Extinctiont Coefficient= ضریب خاموشی

(doD/min(slope)= اختلاف دو عدد خوانده شده طی یک دقیقه در دستگاه

Vol of assay= مقدار عصاره در نمونه

تجزیه آماری داده‌ها و نرم‌افزارهای مورد استفاده

برای انجام تجزیه واریانس و مقایسه میانگین صفات مورد بررسی، از نرم‌افزار SAS سری ۹/۲ استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش آزمون توکی در سطح ۱ و ۵ درصد انجام گرفت. همچنین برای رسم نمودار از نرم‌افزار Excel سری ۲۰۱۰ استفاده گردید.

نتایج و بحث

وزن تر و خشک ساقه گلدهنده

نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) حاکی از آن است که اثرات متقابل غلظت‌های مختلف سدیم نیتروپروساید و پوترسین بر وزن تر و خشک ساقه گلدهنده در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد.

جدول ۱- تجزیه واریانس مربوط به اثرات غلظت‌های مختلف سدیم نیتروپروساید و پوترسین بر برخی شاخص‌های مورفولوژیکی گل رز رقم 'آوالانچ'

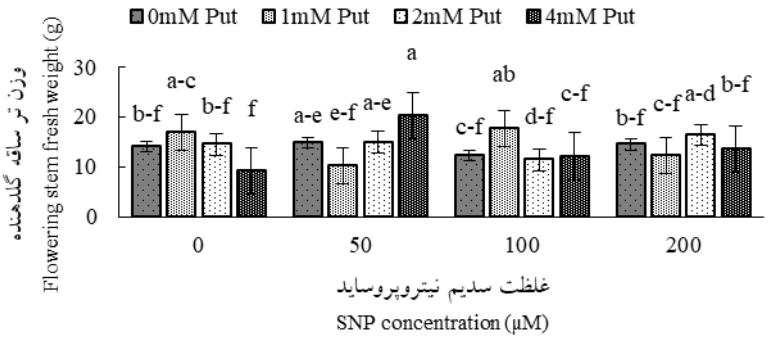
Table 1- ANOVA for the effect of different concentrations of sodium nitroprusside and putrescine on some morphological traits of rose 'Avalanche'

منابع تغییرات S.O.V.	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean Squares	
		وزن تر ساقه گلدهنده Flowering stem fresh weight	وزن خشک ساقه گلدهنده Flowering stem dry weight
سدیم نیتروپروساید Sodium nitroprusside (SNP)	3	6.038^{ns}	5.512*
پوترسین Putrescine (P)	3	0.919^{ns}	4.688*
سدیم نیتروپروساید × پوترسین SNP × P	9	38.807**	7.861**
خطای آزمایشی Error	32	3.234	1.272
ضریب تغییرات CV (%)	-	12.796	17.458

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

*: Significant at $p \leq 0.05$, **: Significant at $p \leq 0.01$ and ^{ns}: Non-significant

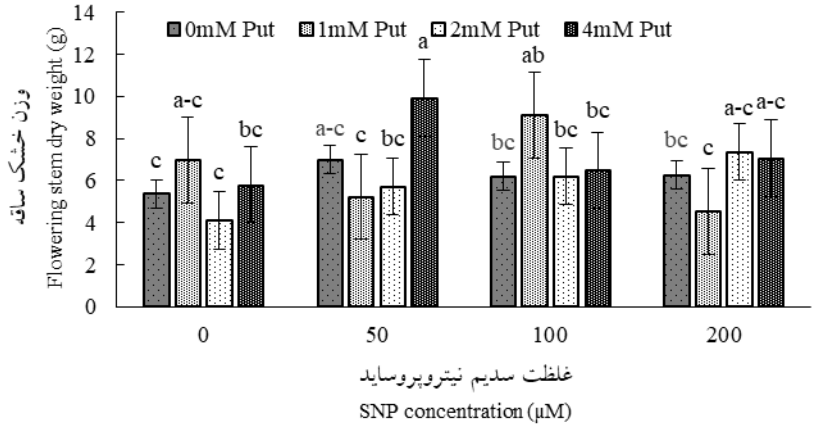
نتایج مقایسه میانگین‌ها (شکل ۱) نشان داد که در بین غلظت‌های مختلف سدیم نیتروپروساید و پوترسین، تنها تیمار ۵۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید و ۴ میلی‌مولار پوترسین اختلاف معنی‌دار در وزن تر ساقه گلدهنده با شاهد نشان داد و بقیه تیمارها اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد نداشتند. همچنین بیشترین وزن تر ساقه گلدهنده (۲۰/۱۶ گرم) مربوط به تیمار ۵۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید و ۴ میلی‌مولار پوترسین و کمترین وزن تر ساقه گلدهنده (۹/۱۴ گرم) مربوط به پوترسین ۴ میلی‌مولار بدون کاربرد سدیم نیتروپروساید بود.



شکل ۱- اثر متقابل سدیم نیتروپروساید × پوترسین بر وزن تر ساقه گلدهنده گل رز رقم 'Avalanche'

Figure 1- The interaction effect of sodium nitroprusside × putrescine on the flowering stem fresh weight of rose 'Avalanche' (Tukey, *p≤0.01*)

با توجه به نتایج مقایسه میانگین‌ها (شکل ۲) در بین غلظت‌های مختلف سدیم نیتروپروساید و پوترسین، تنها تیمار ۵۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید و ۴ میلی‌مولار پوترسین دارای تفاوت معنی‌دار با شاهد (تیمار مربوط به عدم محلول‌پاشی با پوترسین و سدیم نیتروپروساید) بود و توانست وزن خشک ساقه گلدهنده را نسبت به شاهد افزایش دهد، کاربرد بقیه تیمارها تاثیر معنی‌داری بر میزان وزن خشک ساقه گلدهنده نسبت به شاهد نداشتند.



شکل ۲- اثر متقابل سدیم نیتروپروساید × پوترسین بر وزن خشک ساقه گلدهنده گل رز رقم 'Avalanche'

Figure 2- The interaction effect of sodium nitroprusside × putrescine on the flowering stem dry weight of rose 'Avalanche' (Tukey, *p≤0.01*)

نتایج پژوهش حاضر نشان داد سدیم نیتروپروساید در غلظت ۵۰ میکرومولار و در ترکیب با ۴ میلی‌مولار پوترسین در افزایش وزن خشک ساقه گلدهنده موثر بود ولی با افزایش غلظت سدیم نیتروپروساید، این ترکیب اثر معنی‌دار بر وزن خشک ساقه گلدهنده نداشت. این نتیجه با نتایج سایر پژوهشگران در افزایش وزن ساقه مطابقت دارد. در محلول‌پاشی گل جعفری[1] با سدیم‌نیتروپروساید

1- *Tagetes erecta* L.

مشخص شد که سدیم نیتروپروساید در غلظت ۱۰۰ میکرومولار بیشترین وزن خشک ساقه را داشت که با افزایش غلظت، وزن خشک ساقه کاهش می‌یابد (Hosseini and Rezaei Nezhad, 2016). با توجه به نتایج حاصل از این آزمایش، مشخص شد که سدیم نیتروپروساید به عنوان نوعی نیتریک‌اکسید نقش مثبتی در وزن خشک ساقه گلدهنده دارد. مشخص شده است که نیتریک‌اکسید باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های بیوسنتز لیگنین می‌شود (Gomez-Ros *et al.*, 2012). لیگنین یک پلی‌مر بسیار منشعب از سه الکل فنولی ساده است که در دیواره‌های سلولی، به‌ویژه در دیواره‌های ثانویه عناصر تراکئیدی آوند چوبی یافت می‌شود و موجب استحکام مکانیکی و سفتی ساقه‌های چوبی می‌گردد. مطالعات نشان داده که افزایش لیگنین در دیواره‌های سلولی موجب افزایش وزن و ارتفاع ساقه می‌شود (Monzon *et al.*, 2014).

همان‌طور که در پژوهش حاضر مشاهده گردید پوترسین تا حدی باعث افزایش وزن خشک شده ولی این افزایش وزن خشک تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد نشان نداد. پلی‌آمین‌های سلولی باعث رشد گیاهان می‌شوند، مشخص شده است که در نمونه‌های جهش یافته که توانایی تولید پلی‌آمین‌ها را ندارند، توقف رشد در آن‌ها اتفاق می‌افتد و استفاده از پلی‌آمین‌ها در این نمونه‌ها توقف رشد را از بین می‌برد و رشد طبیعی صورت می‌گیرد (Asna Ashari and Zokai Khosroshahi, 2008).

نیتریک اکسید یک عامل اصلی در تنظیم تولید و فعالیت آنزیم سلولاز است که این آنزیم به واسطه سست نمودن دیواره اولیه به عنوان محرک اصلی در بزرگ شدن سلول به حساب می‌آید. همچنین نیتریک اکسید باعث تحریک تولید اکسین در شرایط عادی و طبیعی رشد گیاه و به ویژه در نقاط مریستمی می‌شود (Asghari, 2015). پلی‌آمین‌ها در دامنه گسترده‌ای از فرآیندهای زیستی مانند رشد و نمو، تقسیم یاخته‌ای و تمایزیابی نقش داشته و با افزایش جذب هیدروکربن در قسمت هوایی گیاهان مختلف باعث افزایش وزن تر و خشک ساقه می‌گردند (Abdel Aziz *et al.*, 2009). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که نیتریک اکسید و پوترسین به‌تنهایی بر وزن تر و خشک ساقه گلدهنده تاثیر معنی‌داری نداشتند ولی کاربرد توام آن‌ها باعث افزایش وزن تر و خشک ساقه گلدهنده شد. از آن‌جایی که پلی‌آمین‌ها منجر به افزایش تولید نیتریک اکسید می‌گردند و متقابلا نیتریک اکسید به واسطه تحریک ژن‌های آنزیم‌های سنتز کننده پلی‌آمین‌ها باعث تحریک تولید آن‌ها می‌شود (Asghari, 2015)، می‌توان گفت که در پژوهش حاضر نیتریک اکسید و پوترسین با اثر مثبت بر سنتز همدیگر باعث تحریک رشد شده و در نتیجه باعث افزایش وزن ساقه گلدهنده شدند.

کلروفیل a, b و کلروفیل کل

نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) حاکی از آن است که اثر اصلی و متقابل غلظت‌های مختلف سدیم نیتروپروساید و پوترسین در سطح یک درصد بر میزان کلروفیل a، b و کلروفیل کل برگ معنی‌دار شد.

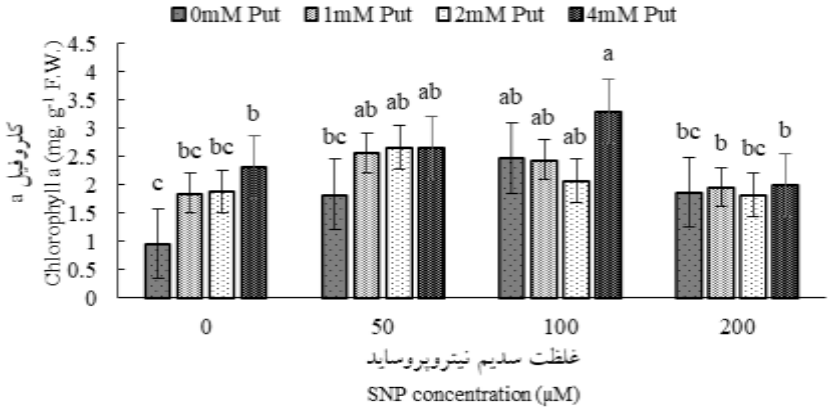
جدول ۲- تجزیه واریانس مربوط به اثرات غلظت‌های مختلف سدیم نیتروپروساید و پوترسین بر رنگیزه های فتوسنتزی گل رز رقم 'آوالانچ'

Table 2- ANOVA for the effect of different concentrations of sodium nitroprusside and putrescine on photosynthetic pigments of rose 'Avalanche'

منابع تغییرات S.O.V.	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean Squares			
		کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل کل Total chlorophyll	کاروتنوئید Carotenoid
سدیم نیتروپروساید Sodium nitroprusside (SNP)	3	1.873 **	0.272**	4.559**	0.151**
پوترسین Putrescine (P)	3	1.237 **	0.125**	1.248**	0.029**
سدیم نیتروپروساید × پوترسین SNP × P	9	0.341**	0.072**	1.721**	0.056**
خطای آزمایشی Error	32	0.103	0.015	0.175	0.01
ضریب تغییرات CV (%)	-	14.83	14.58	13.72	17.80

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

*: Significant at $p \leq 0.05$, **: Significant at $p \leq 0.01$ and ns: Non-significant

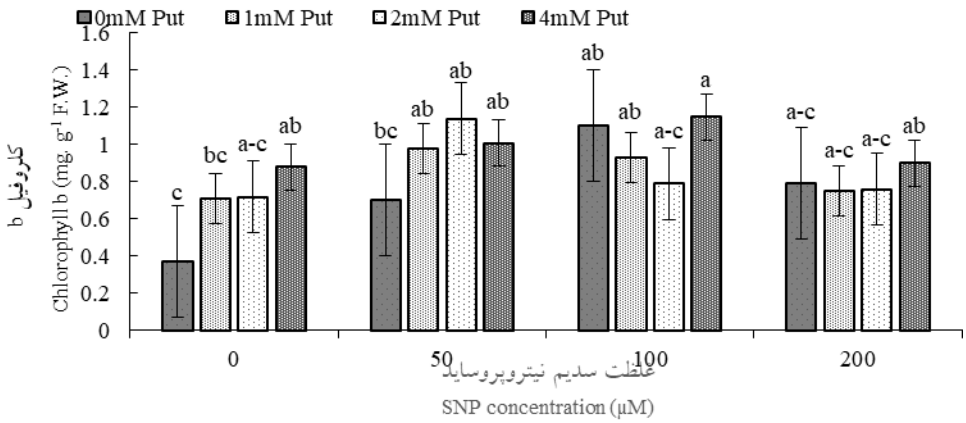


شکل ۳- اثر متقابل سدیم نیتروپروساید × پوترسین بر میزان کلروفیل a رز رقم 'Avalanche'

Figure 3- The interaction effect of sodium nitroprusside × putrescine on the chlorophyll a content of rose 'Avalanche' (Tukey, *p≤0.01*)

نتایج مقایسه میانگین (شکل ۳) نشان می‌دهد که در بین غلظت‌های مختلف سدیم نیتروپروساید و پوترسین، تیمار ۱۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید و پوترسین ۴ میلی‌مولار باعث افزایش حدود ۳ برابری کلروفیل a برگ بود که تفاوت معنی‌داری با شاهد نشان داد.

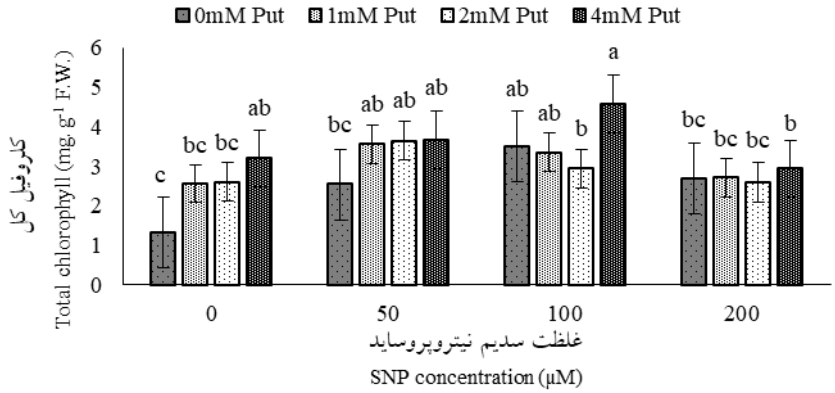
نتایج مربوط به تاثیر غلظت‌های مختلف نیتریک‌اکسید و پوترسین بر میزان کلروفیل b برگ (شکل ۴) نشان می‌دهد که در گیاهان بدون کاربرد سدیم نیتروپروساید، افزایش غلظت پوترسین باعث افزایش میزان کلروفیل b شد، هر چند که این افزایش، فقط در تیمار ۴ میلی‌مولار پوترسین معنی‌دار بود. کاربرد توام سدیم نیتروپروساید و پوترسین نیز در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید (به غیر از تیمار ۱۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید و ۲ میلی‌مولار پوترسین) باعث افزایش معنی‌دار میزان کلروفیل b برگ نسبت به شاهد شد. در غلظت ۲۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید، فقط کاربرد غلظت ۴ میلی‌مولار پوترسین باعث افزایش معنی‌دار کلروفیل b برگ نسبت به شاهد شد.



شکل ۴- اثر متقابل سدیم نیتروپروساید × پوترسین بر میزان کلروفیل b رز رقم 'Avalanche'

Figure 4- The interaction effect of sodium nitroprusside × putrescine on the chlorophyll b content of rose 'Avalanche' (Tukey, *p≤0.01*)

با توجه به نمودار مقایسه میانگین (شکل ۵) کاربرد پوترسین بدون سدیم نیتروپروساید، باعث افزایش میزان کلروفیل کل شد که البته فقط در غلظت ۴ میلی‌مولار، این افزایش نسبت به شاهد، معنی‌دار بود. کاربرد غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید همراه با غلظت‌های مختلف پوترسین باعث افزایش معنی‌دار کلروفیل کل نسبت به شاهد شدند. با افزایش غلظت سدیم نیتروپروساید، میزان کلروفیل کل کاهش یافت و فقط غلظت ۴ میلی‌مولار پوترسین توانست این کاهش را تا حدی جبران کند و باعث افزایش معنی‌دار کلروفیل کل نسبت به شاهد شود.



شکل ۵- اثر متقابل سدیم نیتروپروساید × پوترسین بر میزان کلروفیل کل رز رقم 'Avalanche'

Figure 5- The interaction effect of sodium nitroprusside × putrescine on the total chlorophyll content of rose 'Avalanche' (Tukey, *p≤0.01*)

رنگدانه‌هایی که نور را جهت استفاده در فرآیندهای فیزیولوژیکی جذب می‌کنند، گیرنده نوری نامیده می‌شوند. از جمله آن‌ها می‌توان به کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها اشاره کرد. کلروفیل، رنگدانه‌ای است به رنگ سبز که فقط در داخل کلروپلاست‌ها دیده می‌شود، مقدار آن در واحد سطح، شاخص ظرفیت فتوسنتزی گیاه است و نقش مهمی در فیزیولوژی و بهره‌وری اقتصادی گیاهان دارد. در تشکیل این رنگدانه، عواملی مانند نور، میزان ازت، آهن و منگنز نقش دارند. کلروفیل‌ها شامل کلروفیل a، b، c و d می‌باشند که در گیاهان عالی فقط کلروفیل‌های a و b وجود دارند. لازم به ذکر است که کلروفیل a به رنگ سبز مایل به آبی و کلروفیل b به رنگ زرد مایل به سبز است (Pirzad and Mohammadzadeh, 2018).

نیتریک‌اکسید در فرآیندهایی مثل تقسیم سلولی، فتوسنتز و افزایش میزان کلروفیل کل دخالت دارد که این افزایش کلروفیل توسط نیتریک‌اکسید می‌تواند با اثر بر قابلیت جذب آهن توسط گیاه باشد که در حضور نیتریک‌اکسید، دسترسی به آهن بیشتر می شود و با اثر بر متابولیسم کلروفیل، باعث افزایش سنتز کلروفیل و مانع از تخریب آن می‌شود و همچنین نیتریک‌اکسید به دلیل خاصیت آنتی اکسیدانی خود باعث حفظ کلروفیل در گیاه می‌شود (Fan *et al.*, 2014). از آنجایی که کلروفیل a مرکز واکنش فتوسیستم های I و Π را تشکیل می‌دهد لذا افزایش مقدار آن، تقویت فتوسنتزی گیاه را به دنبال خواهد داشت و نقش کلروفیل b در سیستم فتوسنتزی گیاه، دریافت نور در کمپلکس برداشت نور و انتقال به کلروفیل a است. در شرایط عدم تنش، به‌واسطه فراهم بودن سطح برگ بیشتر، احساس نیاز گیاه به تقویت کمپلکس برداشت نور کمتر است و این می‌تواند دلیلی برای کمتر بودن کلروفیل b در شرایط بدون تنش باشد (Arab *et al.*, 2016). نتایج پژوهش حاضر با نتایج آزمایش‌های صورت گرفته روی لاله، رز و سوسن شرقی که نشان دادند نیتریک‌اکسید در غلظت‌های مناسب، اثر تشویقی بر میزان کلروفیل برگ دارد، همخوانی دارد (Salachna *et al.*, 2016 ، Yousefi *et al.*, 2019; Talebi, 2011). همچنین در آزمایشی که روی پسته انجام شد نتایج نشان دادند که سدیم نیتروپروساید در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار باعث افزایش کلروفیل a و b در برگ‌ها شد (Eslami *et al.*, 2019). نتایج این پژوهش با آزمایش‌های فان و همکاران (Fan *et al.*, 2014) که نشان دادند نیتریک اکسید در غلظت ۱۰۰ میکرومولار، محتوی کلروفیل برگ را در خیار تغییر نداد مغایرت داشت. پس می‌توان نتیجه گرفت که نیتریک‌اکسید در گیاهان مختلف و غلظت‌های مختلف، اثرات متفاوتی بر جای می‌گذارد.

پلی‌آمین‌ها نقش مهمی در پتانسیل فتوسنتزی گیاهان، تشکیل و حفظ کلروفیل، انتقال عناصر معدنی و تولیدات فتوسنتزی دارند (Asghari, 2015). همچنین در فعالیت‌های مختلف رشد از جمله فعالیت رنگیزه‌ها، سنتز پروتئین‌ها و استحکام اسیدهای نوکلئیک و غشاهای سلولی نقش دارند، از طرف دیگر محتوی کلروفیل تحت تاثیر مدیریت تغذیه‌ای گیاه است که نیتروژن نقش مهمی در آن دارد و از آن‌جایی که نیتروژن از آنزیم‌های مهم در سنتز کلروفیل است کمبود آن می‌تواند محتوی کلروفیل را کاهش دهد (Yousefi *et al.*, 2019).

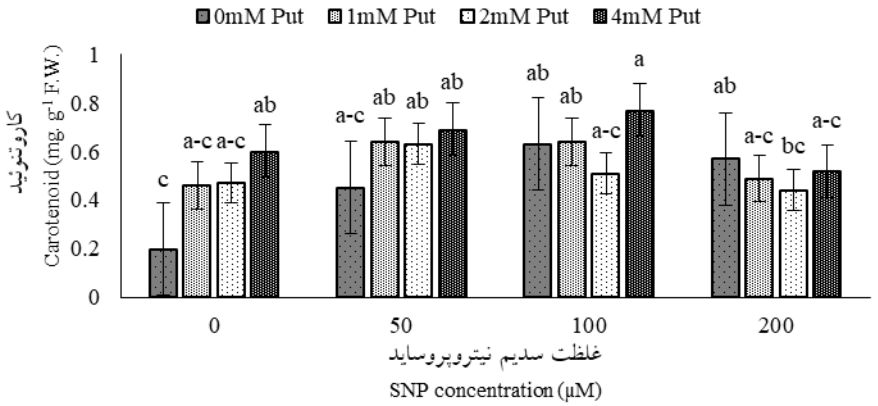
همان‌طور که اشاره شد پلی‌آمین‌ها با حفاظت از ساختارهای غشا و اثر برجذب نیتروژن توسط گیاه، باعث افزایش محتوی کلروفیل در گیاهان می‌شوند. نتایج این پژوهش نشان داد پوترسین باعث افزایش معنی‌داری در مقدار کلروفیل کل در رز شد که بررسی‌های صورت گرفته روی گیاهان، تاثیر مثبت پوترسین بر کلروفیل را نشان دادند. در گلایول، کوکب، مریم گلی و تاج خروس نیز کاربرد پوترسین منجر به افزایش محتوی کلروفیل نسبت به شاهد شد (Abdel Aziz *et al.*, 2009، Badawy *et al.*, 2015 ، Kandil *et al.*, 2015 ,

(Mahgoub *et al.*, 2011). در پژوهش‌های انجام شده روی گل رز و همیشه بهار، مشخص شد که پوترسین در غلظت ۲ میلی‌مولار موجب افزایش کلروفیل برگ در گیاهان شد (Bani Assadi *et al.*, 2015 , Danaee and Abdossi, 2018) و در آزمایشی که روی داوودی انجام شد مشاهده شد که پوترسین در غلظت‌های کم تاثیر مثبتی بر افزایش مقدار کلروفیل داشته که با افزایش غلظت، تاثیر آن کمتر شده است (Kamiab and Zamani Bahramabadi, 2016).

کاروتنوئید

همان‌طور که نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان می‌دهد، اثرات اصلی و متقابل نیتریک اکسید و پوترسین بر میزان کاروتنوئید برگ در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد.

با توجه به نمودار مقایسه میانگین (شکل ۶) مشاهده می‌شود که محلول‌پاشی سدیم نیتروپروساید و پوترسین بر میزان کاروتنوئید برگ اثر مثبتی داشته به طوری‌که افزایش غلظت سدیم نیتروپروساید تا ۱۰۰ میکرومولار باعث افزایش میزان کاروتنوئید شده است. کاربرد غلظت‌های مختلف پوترسین نیز تا حدودی باعث افزایش کاروتنوئید شده است ولی کاربرد توام آنها به ویژه در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید (همراه با غلظت‌های مختلف پوترسین) باعث افزایش معنی‌دار کاروتنوئید نسبت به شاهد شد. در بین تیمارها، تیمار ۱۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید و ۴ میلی‌مولار پوترسین باعث افزایش حدود ۳ برابری کاروتنوئید نسبت به شاهد نشان شد.



شکل ۶- اثر متقابل سدیم نیتروپروساید × پوترسین بر میزان کاروتنوئید رز رقم 'Avalanche'

Figure 6- The interaction effect of sodium nitroprusside × putrescine on the carotenoid content of rose 'Avalanche' (Tukey, *p≤0.01*)

رنگدانه‌های کاروتنوئید وظیفه جمع‌آوری انرژی که می‌تواند در فتوسنتز مورد استفاده قرار گیرد و هم‌چنین محافظت کلروفیل از تخریب نوری در مواقعی که شدت نور زیاد است را برعهده دارند. کمپلکس‌های رنگدانه_ پروتئین غشاهای تیلاکوئید نه تنها دارای کلروفیل هستند بلکه حاوی کاروتنوئید نیز می‌باشند که عمده کاروتنوئید موجود در بیشتر گونه‌های گیاهی، بتا کاروتن است. همان‌طور که گفته شد کاروتنوئیدها دو وظیفه اساسی دریافت نور و محافظت نوری را در فتوسنتز بر عهده دارند. براساس طیف جذبی، در ابتدا اعتقاد بر این بوده است که وظیفه اصلی کاروتنوئیدها، انتقال انرژی جذب شده به کلروفیل است که در این مورد وظیفه کاروتنوئید، دریافت نور است و انرژی جذب شده توسط آن‌ها سرانجام در فتوسنتز مورد استفاده قرار می‌گیرد (Pirzad and Mohammadzadeh, 2018). کاروتنوئیدها رنگیزه‌هایی هستند که در قسمت‌های سبز و بدون سبزینه گیاه یافت می‌شوند و به دلیل غالبیت رنگ سبز کلروفیل، کاروتنوئیدها که مسئول رنگ زرد و نارنجی در گیاهان هستند اغلب پنهان می‌مانند (Khosh-Khui *et al.*, 2010).

نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد که تیمار نیتریک‌اکسید باعث افزایش محتوی کاروتنوئید شده و بیشترین مقدار آن در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار مشاهده می‌شود که احتمال دارد این افزایش در محتوی کاروتنوئید، همزمان با تجمع قند در بافت‌های گیاهی باشد که با نتایج آزمایشات صورت گرفته روی ژربرا و همیشه بهار که نشان دادند نیتریک اکسید باعث افزایش میزان کاروتنوئید در گیاهان می‌شود همخوانی دارد (Hemati *et al.*, 2019, Jabbarzadeh *et al.*, 2016).

پلی‌آمین‌ها به طور مستقیم به گروه‌های اسیدی فسفولیپیدها روی لایه‌های غشاء پلاسمایی متصل می‌شوند و از این طریق بر پایداری و خاصیت نفوذ پذیری غشاها تاثیر می‌گذارند (Mohammadi *et al.*, 2018). به نظر می‌رسد که پلی‌آمین‌ها با حفظ ساختار تیلاکوئیدها و

میزان کلروفیل از طریق تعامل با بار منفی غشاها اثر خود را اعمال می‌کنند (Mostafaei *et al.*, 2018). در پژوهشی که روی میوه گوجه فرنگی انجام شد نتایج نشان داد گوجه‌فرنگی‌های تراریخته مقادیر بیشتری کاروتنوئید نسبت به میوه‌های دست نخورده دارند. تجزیه و تحلیل وابسته به رونویسی نشان داد که تغییرات در محتوی پلی‌آمین‌ها در میوه‌های تراریخت وضعیت پایداری در سطح رونویسی ژن را در متابولیسم کاروتنوئید تحت تاثیر قرار داد و منجر به افزایش محتوی کاروتنوئید شد (Neily *et al.*, 2011). نتایج نشان دهنده این بود که ژن‌های مسئول بیوسنتز کاروتنوئید، تنظیم بیشتری نسبت به ژن‌های در گیر در تجزیه کاروتنوئیدها داشتند، براساس این نتایج می‌توان گفت که مکانیسم تشکیل کاروتنوئیدها در مرحله رونویسی رخ می‌دهد (Fraser and Bramley, 2004).

همان‌طور که مشاهده شد، پوترسین اثر مثبتی بر مقدار کاروتنوئید برگ داشت به طوری‌که در غلظت ۲ میلی‌مولار بیشترین میزان کاروتنوئید برگ مشاهده شد. مطابق با نتایج پژوهش حاضر، در پژوهش های انجام گرفته روی رز، گلایول، همیشه بهار و آویشن نشان داد که پوترسین، باعث افزایش محتوی کاروتنوئید برگ می‌شود (Abdel Aziz *et al.*, 2009, Bani Assadi *et al.*, 2015, Mostafaei *et al.*, 2018, Yousefi *et al.*, 2019).

خمیدگی ساقه گل

نتایج جدول ۳ حاکی از آن است که اثرات اصلی و متقابل غلظت‌های مختلف سدیم نیتروپروساید و پوترسین بر خمیدگی ساقه گل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد.

مقایسه میانگین داده ها (شکل ۷) نشان می‌دهد که در بین غلظت‌های مختلف سدیم نیتروپروساید و پوترسین، کمترین خمیدگی ساقه در غلظت‌های ۱۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید و پوترسین ۲ و ۴ میلی‌مولار بود که تفاوت معنی‌داری نسبت به شاهد داشت.

عوامل گوناگونی در خمیدگی ساقه گل نقش دارند، یکی از عمده‌ترین آن‌ها، کافی نبودن بافت اسکلرانشیم در قسمت بالای ساقه است. بافت اسکلرانشیم و چوب مقدار زیادی لیگنین در دیواره خود دارند (Perik *et al.*, 2012). در آزمایشی روی گیاه برنج مشاهده شد که جلوگیری از بیان ژن سینامیل الکل دهیدروژناز که در مسیر ساخت لیگنین عمل می‌کند باعث شد که ساقه‌های برنج، بافت اسکلرانشیم نازک‌تر داشته باشند که استحکام مکانیکی کمتری دارد و ساقه‌ها به سرعت خمیده می‌شوند، در نتیجه می توان گفت لیگنین در دیواره اسکلرانشیم برای استحکام ساقه مهم است (Li *et al.*, 2009). هم‌چنین گزارش شده است که جلوگیری از فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز در گل ژربرا باعث افزایش خمیدگی ساقه شده است (Ferrante *et al.*, 2007). با توجه به اینکه در این پژوهش کاربرد غلظت‌های ۱۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید همراه با پوترسین ۲ و ۴ میلی‌مولار باعث کاهش خمیدگی گردن شد، به نظر می رسد که نیتریک‌اکسید از راه انگیزش فنیل آلانین آمونیالیاز و افزایش ساخت لیگنین و در نتیجه افزایش بافت‌های استحکامی در ساقه گیاه، باعث حفاظت از ساقه در برابر خم‌شدگی می‌شود که این نتایج در ژربرا با کاربرد نیتریک اکسید مطابقت دارد (Sadeghi *et al.*, 2016). اثر پوترسین بر کاهش خمیدگی گردن نیز می‌تواند به دلیل خاصیت ضد اتیلنی آن باشد که با اثر بر کاهش تولید اتیلن، مانع از تخریب بافت‌ها می‌شود که این نتایج با پژوهش صورت گرفته روی رز همخوانی داشت (Hosseini Farahi *et al.*, 2013).

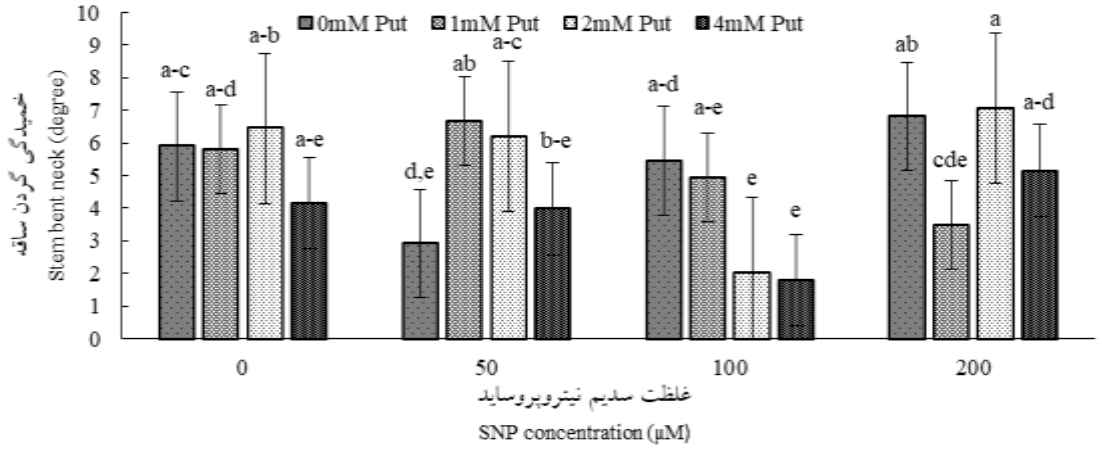
جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس مربوط به اثرات غلظت‌های مختلف سدیم نیتروپروساید و پوترسین بر خمیدگی گردن ساقه گل رز رقم 'آوالانچ' در مرحله پس از برداشت

Table 3- Results of variance analysis related to the effect of different concentrations of sodium nitroprusside and putrescine on stem bent neck of rose 'Avalanche' at post-harvest stage

منابع تغییرات S.O.V.	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean Squares خمیدگی گردن ساقه Stem bent neck
سدیم نیتروپروساید Sodium nitroprusside (SNP)	3	12.938**
پوترسین Putrescine (P)	3	6.907**
سدیم نیتروپروساید × پوترسین SNP × P	9	7.841**
خطای آزمایشی Error	32	0.697
ضریب تغییرات CV (%)	-	17.01

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

*: Significant at $p \leq 0.05$, **: Significant at $p \leq 0.01$ and ns: Non-significant



شکل ۷- اثر متقابل سدیم نیتروپروساید × پوترسین بر خمیدگی ساقه گلدهنده گل رز رقم 'Avalanche'

Figure 7- The interaction effect of sodium nitroprusside × putrescine on the flowering stem neck of rose 'Avalanche' (Tukey, *p≤0.01*)

فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز گلبرگ

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۴) بیانگر این است که اثرات اصلی و متقابل نیتریک‌اکسید با پوترسین، سدیم نیتروپروساید با زمان و پوترسین با زمان و هم‌چنین اثرات متقابل غلظت‌های مختلف نیتریک اکسید، پوترسین و زمان در سطح احتمال یک درصد بر میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز معنی‌دار شد.

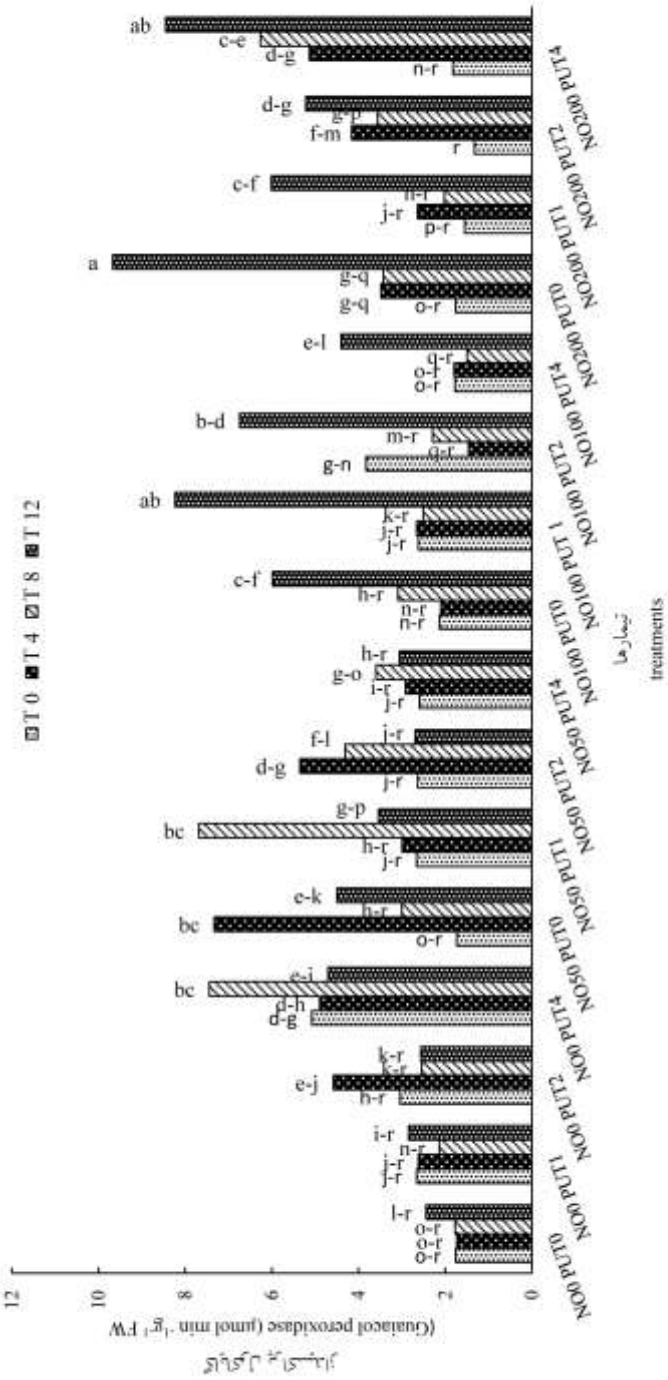
نتایج مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۸) حاکی از آن است که تغییرات میزان آنزیم گایاکول پراکسیداز بستگی به تیمارهای به کار برده شده و زمان‌های مختلف نمونه برداری داشته و روند ثابتی را طی نکرده است با این وجود در برخی شرایط و تیمارها افزایش معنی‌دار فعالیت این آنزیم دیده می شود. میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در روزهای دوازدهم در تیمارهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید با یا بدون کاربرد پوترسین تفاوت معنی‌داری با بقیه تیمارها در روزهای مختلف نمونه برداری داشت. در اغلب تیمارها میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در روز صفر نمونه برداری کمتر از بقیه روزها بود و با افزایش روزهای ماندگاری گل‌ها در گلجای، میزان آنزیم نیز افزایش پیدا کرد.

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز گلبرگ

بررسی نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۴) نشان می‌دهد که اثرات اصلی زمان، سدیم نیتروپروساید و پوترسین در سطح یک درصد و هم‌چنین اثرات سدیم نیتروپروساید با پوترسین، سدیم نیتروپروساید با زمان و پوترسین با زمان و اثرات متقابل سدیم نیتروپروساید با پوترسین و زمان در سطح یک درصد بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز معنی‌دار شد.

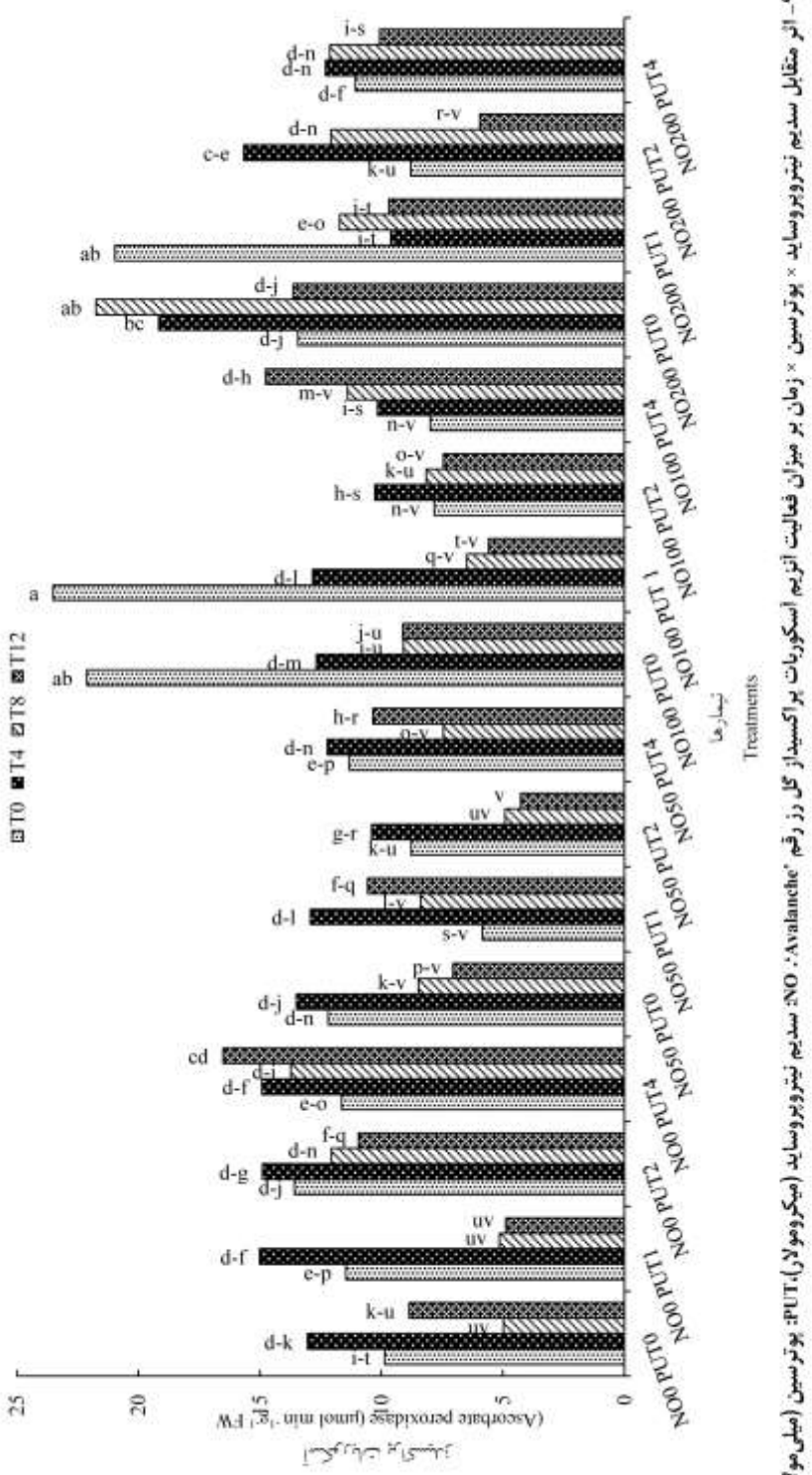
بررسی نتایج مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۹) نشان می‌دهد که میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نیز روند افزایشی یا کاهشی ثابتی نداشته اشت. با این وجود کاربرد سدیم نیتروپروساید در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار بدون کاربرد پوترسین و یا با کاربرد غلظت‌های کم پوترسین (۱ میلی‌مولار) در روز صفر باعث افزایش تقریبا دو برابری میزان فعالیت این آنزیم نسبت به شاهد شدند.

نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد که کاربرد توام سدیم نیتروپروساید و پوترسین تاثیر مثبتی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی دارد. با توجه به نتایج مقایسه میانگین داده‌ها می‌توان گفت افزایش غلظت سدیم نیتروپروساید تا غلظت ۱۰۰ میکرومولار به همراه پوترسین باعث افزایش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز تا روز ۱۲ شد. از سویی دیگر کاربرد پوترسین به تنهایی در غلظت ۴ میلی‌مولار و سدیم نیتروپروساید به تنهایی در غلظت ۲۰۰ میکرومولار نیز تاثیرات مثبتی بر میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیدار داشتند و در نتیجه می توان چنین نتیجه گرفت که کاربرد توام هر دو ماده حتی در غلظت های کم می تواند در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و جلوگیری از تخریب رادیکال های آزاد موثر باشد. در آنزیم آسکوربات پراکسیداز، فعالیت آنزیم با افزایش زمان ماندگاری گل‌ها در گلجای روند کاهشی داشت ولی تیمارهای استفاده شده در پژوهش، در میزان فعالیت آنزیم موثر بودند، طوری که در تیمارهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرو-مولار سدیم نیتروپروساید بدون کاربرد پوترسین و یا با کاربرد غلظت های کم پوترسین (۱ میلی‌مولار) فعالیت آنزیم بیشتر بود که البته با گذر زمان از فعالیت آنزیم کاسته شد. به طور کلی می‌توان گفت که سدیم نیتروپروساید در غلظت‌های زیاد در مرحله پس از برداشت، بیشترین تاثیر را در فعالیت آنزیم‌ها دارد و با افزایش فعالیت آنزیم‌ها، مانع از فعالیت و تخریب رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شود که این نتایج با یافته‌های ژنگ و همکاران (Zhou *et al.*, 2011) در میخک، کاظم زاده بنه و همکاران (Kazemzadeh-Beneh *et al.*, 2018) در گلایول، دنگ و همکاران (Deng *et al.*, 2019) در رز مطابقت داشت.



شکل ۸- اثر متقابل سدیم نیتروپروساید × پوترسین × زمان بر میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز گل رز رقم 'Avalanche': NO: سدیم نیتروپروساید (میکرومولار)، PUT: پوترسین (میلی‌مولار)، T: زمان (روز)

Figure 8- The interaction effect of sodium nitroprusside × putrescine × time on the guaiacol peroxidase activity of rose 'Avalanche'. NO: sodium nitroprusside (µM), PUT: putrescine, T: time (day) (Tukey, $p \leq 0.01$)



شکل ۹- اثر متقابل سدیم نیتروپروساید × پوترسین × زمان بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز گل رز رقم 'Avalanche'. NO: سدیم نیتروپروساید (میکرومولار)، PUT: پوترسین (میلی‌مولار)، T: زمان (روز)

Figure 9- The interaction effect of sodium nitroprusside × putrescine × time on the ascorbate peroxidase activity of rose 'Avalanche'. NO: sodium nitroprusside (µM), PUT: putrescine, T: time (day) (Tukey, $p \leq 0.01$)

جدول ۴- تجزیه واریانس مربوط به اثرات غلظت‌های مختلف سدیم نیتروپروساید و پوترسین بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گل رز رقم 'آوالانچ' در مرحله پس از برداشت

Table 4- ANOVA for the effect of different concentrations of sodium nitroprusside and putrescine on antioxidant enymes activity at postharvest stage of rose 'Avalanche'

منابع تغییرات S.O.V.	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean Squares	
		گایاکول پراکسیداز Guaiacol peroxidase	آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase
سدیم نیتروپروساید Sodium nitroprusside (SNP)	3	1.062*	1.640**
پوترسین Putrescine (P)	3	1.871**	6.067**
زمان Time (T)	3	59**	74.569**
سدیم نیتروپروساید × پوترسین SNP × P	9	15.531**	15.964**
سدیم نیتروپروساید × زمان T×SNP	9	31.766**	23.733**
پوترسین × زمان T×P	9	6.064**	3.389**
سدیم نیتروپروساید × پوترسین × زمان T× P ×SNP	27	6.143**	2.776**
خطای آزمایشی Error	128	0.319	0.575
ضریب تغییرات CV (%)	-	16.41	22.463

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

*: Significant at $p \leq 0.05$, **: Significant at $p \leq 0.01$ and ns: Non-significant

در گیاهان، هنگام پیری، انواع اکسیژن‌های فعال نظیر سوپر اکسید (O_2^-)، پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و رادیکال هیدروکسیل تشکیل می‌شوند. انواع اکسیژن‌های فعال به طور جدی به متابولیسم‌های طبیعی گیاه آسیب وارد نموده و سبب خسارت به لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای آمینه می‌شوند. به دلیل اینکه طی پدیده فتوسنتز، میزان اکسیژن‌های درونی بیشتر می‌باشد در این شرایط کلروپلاست‌ها به تولید انواع اکسیژن‌های فعال تمایل دارند. سوپراکسید تولید شده سریعا موجب تشکیل پراکسید هیدروژن و اکسیژن می‌شود. پراکسید هیدروژن از فعالیت واکنشی محدودی برخوردار است و تقریبا نیمه عمر طولانی دارد (یک میلی ثانیه). پراکسید هیدروژن یک رادیکال آزاد نیست، اما به عنوان احیا کننده یا اکسید کننده در بسیاری از واکنش‌های سلولی مشارکت و برخلاف رادیکال سوپر اکسید، قابلیت انتشار زیادی از طریق غشاها و محیط‌های آبی دارد و ممکن است به طور مستقیم در غلظت‌های کم، آنزیم‌های حساس را غیر فعال کند (Gupta *et al.*, 2019). در ضمن احتمال دارد پراکسید هیدروژن در حضور بعضی از یون‌های فلزی و یا کلات‌های فلزی اثر متقابل نشان داده و موجب تولید هیدروکسیل دوباره فعال شده گردد (Jalili Marandi, 2010). سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز، کاتالاز وآسکوربات پراکسیداز مهم‌ترین آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در گیاه هستند (Gupta *et al.*, 2019).

از مهم‌ترین راه‌های دفاعی گیاهان در مقابل گونه‌های فعال اکسیژن، می‌توان به آنزیم‌های آنتی اکسیدانی اشاره کرد. یکی از اصلی‌ترین عوامل خسارت در مرحله پس از برداشت گیاهان، ایجاد گونه‌های اکسیژن فعال است که باعث تغییر در ساختار ترکیبات غشایی و آنتی‌اکسیدانی می‌شود، که گیاهان از طریق دو سیستم آنزیمی (آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز، سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز) و غیر آنزیمی موجب حذف و تجزیه پراکسید هیدروژن و رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شوند. در شرایط نرمال، انواع اکسیژن‌های واکنش زا به طور ثابت در قسمت‌های مختلف گیاه از جمله کلروپلاست‌ها و میتوکندری، غشای پلاسمایی و غیره تولید می‌شوند که در شرایط تخریب و پیری درحدی که برای گیاه مضر باشند تولید آن‌ها زیاد می‌شود. در شرایط طبیعی، رشد گونه‌های

اکسیژن فعال توسط سیستم‌های آنتی اکسیدانی گیاه حذف شده اما زمانی که گیاه در شرایط تخریب قرار می‌گیرد ومیزان تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن به شدت افزایش یافته، به طوری‌که بر میزان فعالیت سیستم آنتی اکسیدانی غلبه نموده در نتیجه تنش اکسیدی رخ می‌دهد که در نهایت باعث صدمه به پروتئین‌ها، RNA، DNA و غشاء یاخته‌ای شده و پراکسیداسیون لیپیدی اتفاق می‌افتد (Kumar *et al.*, 2014). یکی از آنزیم‌های اکسید کننده ترکیبات فنولی که نقش مهمی در افزایش دفاع آنتی اکسیدانی دارد آنزیم گایاکول پراکسیداز است که به عنوان گیرنده و جمع کننده پراکسیدها عمل می‌کند و اثرات مخرب این مولکول‌ها را می‌کاهد (Zhou *et al.*, 2011). بعضی گیاهان با تولید آنتی اکسیدان‌ها، خود را از خسارت انواع اکسیژن‌های فعال محافظت می‌کنند. سوپر اکسید دیسموتاز، سوپراکسید را به پراکسید هیدروژن تبدیل می‌کند. آنزیم آسکوربات پراکسیداز که همیشه در داخل کلروپلاست‌ها وجود دارد پراکسید هیدروژن را تجزیه می‌کند.آسکوربات از طریق چرخه آسکوربات – گلوتاتیون در کلروپلاست‌ها تولید می‌شود و همچنین آسکوربات می‌تواند بطور مستقیم توسط سوپراکسید اکسیده شود (Jalili Marandi, 2010).

گزارش شده است که نیتریک‌اکسید و اس نیتروزوتیول‌ها در پاسخ به انواع تنش‌ها تولید می‌شوند (Asghari, 2015). نیتریک‌اکسید از آنزیم‌های محتوی هِم، آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز در مقابل گونه‌های فعال اکسیژن محافظت می‌کند. رادیکال آزاد نیتریک‌اکسید اثرات سمی گونه‌های فعال اکسیژن را از بین می‌برد. اثرات محافظتی نیتریک‌اکسید ممکن است با تنظیم غلظت و سمیت آن به دلیل همراهی با ROS در اکسیداتیو چربی مرتبط باشد (Duan *et al.*, 2007).

یکی از مهم ترین مکانیسم‌های محافظت از گیاهان در شرایط تنش، جلوگیری از تولید رادیکال‌های آزاد است (Bani Assadi *et al.*, 2015). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی یکی از سیستم‌های بسیار مؤثر هستند که در محافظت از سلول‌ها در برابر پاتوژن و اکسیداتیو ناشی از پیری بافت و در جلوگیری از پیری و مرگ سلول مفید هستند. همان‌طور که گفته شد در شرایط پس از برداشت، با افزایش پیری، میزان تولید گونه‌های اکسیژن فعال افزایش یافته و تخریب سلولی اتفاق می‌افتد. پلی‌آمین‌ها می‌توانند به عنوان غیر فعال کننده رادیکال‌های آزاد ونیز با اتصال به مولکول‌های پروتئین که در ساختن آنزیم‌ها تاثیر دارند عمل کنند. پلی‌آمین‌ها به طور مستقیم یا از طریق کاهش گونه‌های فعال اکسیژن سبب افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌شوند (Kakkar and Sawhney, 2003). با توجه به مطالب گفته شده و نتایج پژوهش حاضر که نشان می‌دهد پوترسین با افزایش غلظت، باعث افزایش فعالیت آنزیم های آنتی‌اکسیدانی شده است به طوری که بیشترین فعالیت آنزیم در غلظت ۴ میلی‌مولار مشاهده شد که با گذشت زمان در مرحله پس از برداشت، فعالیت آنزیم نیز زیاد شده است که با نتایج پژوهش‌های انجام شده در لیزیانتوس و رز مطابقت داشت (Badawy *et al.*, 2015Badawy *et al.*, 2015,).

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان نتیجه گرفت که نیتریک اکسید و پوترسین موجب بهبود برخی ویژگی‌های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی قبل از برداشت و شاخص‌های پس از برداشتی می‌شوند. نتایج نشان داد که بیشترین وزن تر و خشک ساقه گلدهنده و میزان کلروفیل a, b و کلروفیل کل، کاروتنوئید و کمترین خمیدگی ساقه در غلظت ۱۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید و ۴ میلی‌مولار پوترسین بود و همچنین بیشترین میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در غلظت ۲۰۰ میکرومولار سدیم‌نیتروپروساید بدون کاربرد پوترسین بود. بیشترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نیز در غلظت ۱ میلی‌مولار پوترسین مشاهده شد.

منابع

1. Abdel Aziz N.G., Taha Lobna S., and Ibrahim Soad M.M. 2009. Some studies on the effect of putrescine, ascorbic acid and thiamine on growth, flowering and some chemical constituent of Gladiolous plants at Nuberia. Ozean. Journal of Applied Sciences 2(2): 169-179.
2. Arab S., Baradaran Firoz Abadi M., Asghari A., and Rahimi M. 2016. The effect of foliar application of ascorbic acid and sodium nitroprusside on grain protein content, yield and some agronomic traits of safflower under water deficit stress. Journal of Crop Production 38(4): 93-104.
3. Asghari M. 2015. Hormones and New (Non-Classic) Plants Growth Regulators. Urmia University press. (In Persian)
4. Asna Ashari M., and Zokai Khosroshahi M. 2008. Polyamines and Horticultural Sciences. Bu-Ali Sina University, 163 p. (In Persian)
5. Ataii D., Khandan-Mirkohi A., and Naderi R. 2015. Exogenous putrescine delays senescence of Lisianthus cut flowers. Journal of Ornamental Plants 3: 167-174.
6. Badawy E.M., Kandil M.M., Mahgoub M., Shanan N., and Hegazi N. 2015. Chemical constituents of *Celosia*

argentea var. *cristata* L. plants as affected by foliar application of putrescine and alpha-tocopherol. International Journal of ChemTech Research 8(12): 464-470.
7. Bani Assadi F., Safari V.R., and Maghsoudi A.A. 2015. Effect of putrescine and salinity on the morphological, biochemical, and pigments of English marigold plant (*Calendula officinalis* L.). Journal of Science and Technology of Greenhouse Cultures 6(21): 125–133. (In Persian with English abstract)
8. Bhattacharjee S.K., and Banerji B.K. 2010. The Complete Book of Roses. Jaipur 302 003 (Raj.) India. 531 p.
9. Chen D., Shao Q., Yin L., Younis A., and Zheng B. 2019. Polyamine function in plants: metabolism, regulation on development, and roles in abiotic stress responses. Frontiers in Plant Science 9: 1945. https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01945.
10. Danaee E., and Abdossi V. 2018. Effect of different concentration and application methods of polyamines (Putrescine, Spermine, Spermidine) on some morphological, physiological, and enzymatic characteristics and vase life of *Rosa hybrida* cv. Dolce Vita cut flower. Journal of Ornamental Plants 8(3): 171-182.
11. Dastyaran M., and Hosseini Farahi M. 2014. The effect of humic acid and putrescin on vegetative properties and vase life of rose in a soilless system. Journal of Science and Technology of Greenhouse Cultures 20: 243–252. (In Persian with English abstract)
12. Deng Y., Wang C., Huo J., Hu W., and Liao W. 2019. The involvement of NO in ABA-delayed the senescence of cut roses by maintaining water content and antioxidant enzymes activity. Scientia Horticulturae 247: 35-41. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.12.006.
13. Duan X., Su X., You Y., Qu H., Li Y., and Jiang Y. 2007. Effect of nitric oxide on pericarp browning of harvested longan fruit in relation to phenolic metabolism. Food Chemistry 104(2): 571-576. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.12.007.
14. Eslami M., Nasibi F., Manouchehri Kalantari K., Khezri M., and Oloumi H. 2019. Effect of exogenous application of L-arginine and sodium nitroprusside on fruit abscission and physiological disorders of pistachio (*Pistacia vera* L.) Scions. International Journal of Horticultural Science and Technology 6(1): 51-62.
15. Fan H.F., Du C.X., Ding L., and Xu Y.L. 2014. Exogenous nitric oxide promotes waterlogging tolerance as related to the activities of antioxidant enzymes in cucumber seedlings. Russian Journal of Plant Physiology 61(3): 366-373. https://doi.org/10.1134/S1021443714030042.
16. Ferrante A., Alberici A., Antonacci S., and Serra G. 2007. Effect of promoter and inhibitors of phenylalanine ammonia-lyase enzyme on stem bending of cut gerbera flowers. In International Conference on Quality Management in Supply Chains of Ornamental 755: 471-476.
17. Fraser P.D., and Bramley P.M. 2004. The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids. Progress in Lipid Research 43(3): 228-265. https://doi.org/10.1016/j.plipres.2003.10.002.
18. Gohari G., Alavi Z., Esfandiari E., Panahirad S., Hajihoseinlou S., and Fotopoulos V. 2020. Interaction between hydrogen peroxide and sodium nitroprusside following chemical priming of *Ocimum basilicum* L. against salt stress. Physiologia Plantarum 168(2): 361-373. https://doi.org/10.1111/ppl.13020.
19. Gomez-Ros L.V., Gabaldon C., Nunez-Flores M.J.L., Gutierrez J., Herrero J., Zapata J.M., Sottomayor M., Cuello J., and Barcelo A.R. 2012. The promoter region of the *Zinnia elegans* basic peroxidase isoenzyme gene contains cis-elements responsive to nitric oxide and hydrogen peroxide. Planta 236(2): 327-342. https://doi.org/10.1007/s00425-012-1604-3.
20. Gupta D.K., Palma J.M., and Corpas F.J. 2019. Nitric Oxide and Hydrogen Peroxide Signaling in Higher Plants. Springer, 275p.
21. Hemati E., Daneshvar M.H., and Heidari M. 2019. The roles of sodium nitroprusside, salicylic acid, and methyl jasmonate as hold solutions on vase life of *Gerbera jamesonii* 'Sun Spot'. Advances in Horticultural Science 33(2): 187-195. https://doi.org/10.13128/ahs-24261.
22. Hosseini Farahi M., Khalighi A., Kholdbarin B., Mashhadi Akbar-Boojar M., and Eshghi S. 2013. Morphological responses and vase life of *Rosa hybrida* cv. Dolce Vita to polyamines spray in hydroponic system. World Applied Sciences Journal 21(11): 1681-1686. https://doi.org/10.5829/idosi.wasj.2013.21.11.1868.
23. Hosseini H., and Rezaei Nezhad A. 2016. Effects of foliar application of sodium nitroprusside on drought tolerance of Marigold. Iranian Journal of Horticulture Science and Technology 17(3): 285-298. (In Persian with English abstract)
24. Jabbarzadeh M., Tehranifar A., Amiri J., and Abedi B. 2016. Investigation on the protective role of nitric oxide in reducing damages induced by salinity stress in *Calendula officinalis* L. Journal of Horticultural Science 30(2): 185-191. (In Persian with English abstract)
25. Jalili Marandi R. 2010. Physiology of Environmental Stresses and Resistance Mechanisms in Garden Plants. Jahad Daneshghahi of Urmia press, 636P. (In Persian)
26. Kahrobaiyan M., Nemati S.H., Rahemi M., Kholdebarin B., and Tehranifar A. 2019. Morphological responses of ornamental sunflower to putrescine treatment under drought conditions. Applied Ecology and Environmental Research 17(3): 6117-6127.
27. Kakkar, R.K., and Sawhney, V.K. 2003. Polyamine research in plants- a changing perspective. Physiolgia

Plantarium 116:281-292. https://doi.org/10.1034/J.1399-3054.2002.1160302.X.
28. Kamiab F., and Zamani Bahramabadi E. 2016. The effect of different polyamines on some physiological traits as ACC oxidase and superoxide dismutase enzymes activity in *Chrysanthemum morifolium* cv. Bright Golden Ann. Journal of Ornamental Plants 6(2): 83-91.
29. Kandil M.M., Soad M.M., Lbrahaim S.H., El-Hanafy S.H., and El-Sabwah M.M. 2015. Effect of putrescine and uniconazole on some flowering characteristics and some chemical constituents of *Saliva splendens* F. plant. Journal of Chemical Technology and Biotechnology 8(9): 178-186. https://doi.org/10.21608/ejarc.2012.214880.
30. Kang H.M., and Saltveit M.E. 2002. Chilling tolerance of maize, cucumber and rice seedling leaves and roots and differentially affected by salicylic acid. Plant Physiology 115: 571-576. https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.2002.1150411.x.
31. Karamiyan R. 2019. Study of the effects of salicylic acid, sodium nitroprusside and ethanol on vase life and flower quality of cut flowers of two gerbera varieties. Journal of Plant Research 32(3): 635-646.
32. Kazemzadeh-Beneh H., Samsampour D., and Zarbakhsh S. 2018. Biochemical, physiological changes and antioxidant responses of cut gladiolus flower 'White Prosperity' induced by nitric oxide. Advances in Horticultural Science 32(3): 421-431. https://doi.org/10.13128/ahs-23361.
33. Khosh-Khui M., Sheybani B., Rohani E., and Tafazoli A. 2010. Principles of Horticulture. Shiraz University press. (In Persian)
34. Kumar S., Yadav P., Jain V., and Malhotra S.P. 2014. Isozymes of antioxidative enzymes during ripening and storage of ber (*Ziziphus mauritiana* Lamk.). Food Science and Technology 51: 329-334. https://doi.org/10.1007/s13197-011-0489-7.
35. Li X., Yang Y., Yao J., Chen G., Li X., Zhang Q., and Wu C. 2009. Flexible culm encoding a cinnamyl-alcohol dehydrogenase controls culm mechanical strength in rice. Plant Molecular Biology 69(6): 685-697. https://doi.org/10.1007/s11103-008-9448-8.
36. Lichtenthaler H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. Methods in Enzymology 148: 350-382. https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1.
37. Mahgoub M.H., El-Aziz N.A., and Mazhar A.M.A. 2011. Response of *Dahlia pinnata* L. plant to foliar spray with putrescine and thiamine on growth, flowering and photosynthetic pigments. American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences 10(5): 769-775.
38. Mohammadi H., Ghorbanpour M., and Brestic M. 2018. Exogenous putrescine changes redox regulations and essential oil constituents in field-grown *Thymus vulgaris* L. under well-watered and drought stress conditions. Industrial Crops and Products 122: 119-132. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.05.064.
39. Monzon G.C., Pinedo M., Di Rienzo J., Novo-Uzal E., Pomar F., Lamattina L., and de la Canal L. 2014. Nitric oxide is required for determining root architecture and lignin composition in sunflower. Supporting evidence from microarray analyses. Nitric Oxide 39: 20-28. https://doi.org/10.1016/j.niox.2014.04.004.
40. Mostafaei E., Zehtab-Salmasi S., Salehi-Lisar Y., and Ghassemi-Golezani K. 2018. Changes in photosynthetic pigments, osmolytes and antioxidants of Indian Mustard by drought and exogenous polyamines. Acta Biologica Hungarica 69(3): 313-324. https://doi.org/10.1556/018.68.2018.3.7.
41. Mostofi Y., Rasouli P., Naderi R., Bagheri Marandi G., and Shafiei M. 2010. Effect of nitric oxide and thidiazuron on vase life and some qualitative characteristics of cut carnation flower (*Dianthus caryophyllus* cv. Nelson). Iranin Journal of Horticulture Science 41: 301-308. (In Persian with English abstract)
42. Nakano Y., and Asada K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. Journal of Plant Cell Physiology 22: 867-880. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a076232.
43. Neily M.H., Matsukura C., Maucourt M., Bernillon S., Deborde C., Moing A., Yin Y., Saito T., Mori K., Asamizu E., Rolin D., Moriguchi T., and Ezura H. 2011. Enhanced polyamine accumulation alters carotenoid metabolism at the transcriptional level in tomato fruit over-expressing spermidine synthase. Journal of Plant Physiology 168: 242-252. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2010.07.003.
44. Perik R.R., Razé D., Harkema H., Zhong Y., and Van Doorn W.G. 2012. Bending in cut *Gerbera jamesonii* flowers relates to adverse water relations and lack of stem sclerenchyma development, not to expansion of the stem central cavity or stem elongation. Postharvest Biology and Technology 74: 11-18. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2012.06.009.
45. Pirzad A.R., and Mohammadzadeh S. 2018. Crop Physiology. Urmia University Press. (In Persian)
46. Salachna P., and Zawadzińska A. 2018. Effect of nitric oxide on growth, flowering and bulb yield of *Eucomis autumnalis*. In VII International Conference on Managing Quality in Chains (MQUIC2017) and II International Symposium on Ornamentals in 1201: 635-640.
47. Sadeghi J., Farahmand H., Nasibi F., and Hosseini F. 2016. Effect of nitric oxide on physiological and antioxidant responses and reducing stem neck of gerbera cut flower. Iranian Journal of Horticultural Sciences and Technologies 17(2): 193-208. (In Persian with English abstract)
48. Salachna P., Zawadzińska A., Wierzbiński Ł., and Senderek W. 2016. Enhancing growth in *Eucomis autumnalis* (Mill.) Chitt. seedlings with exogenous application of nitric oxide. Journal of Horticultural Research 24(2): 13-17.

49. Sami F., Faizan M., Faraz A., Siddiqui H., Yusuf M., and Hayat S. 2017. Nitric oxide-mediated integrative alterations in plant metabolism to confer abiotic stress tolerance, NO crosstalk with phytohormones and NO-mediated post translational modifications in modulating diverse plant stress. Nitric Oxide 73: 22-38. https://doi.org/10.1016/j.niox.2017.12.005.
50. Shabanian, S., Esfahani, M.N., Karamian, R., and Tran, L.S.P. 2018. Physiological and biochemical modifications by postharvest treatment with sodium nitroprusside extend vase life of cut flowers of two gerbera cultivars. Postharvest Biology and Technology 137: 1-8. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.11.009.
51. Shi H., Liu W., Wei Y., and Ye T. 2017. Integration of auxin/indole-3-acetic acid 17 and RGA-LIKE3 confers salt stress resistance through stabilization by nitric oxide in Arabidopsis. Journal of Experimental Botany 68: 1239–1249. https://doi.org/10.1093/jxb/erw508.
52. Singh S., Kumar V., Kapoor D., Kumar S., Singh S., Dhanjal D.S., and Singh J. 2020. Revealing on hydrogen sulfide and nitric oxide signals co-ordination for plant growth under stress conditions. Physiologia Plantarum 168(2): 301-317. https://doi.org/10.1111/ppl.13002.
53. Talebi F. 2011. The effects of nitric oxide and thidiazuron on qualitative traits and shelf life of cut roses (*Rosa hybrida* cv. Sensiro) (M.Sc. Thesis). Zanjan University. (In Persian)
54. Upadhyaya A., Sankhla D., Davis T.D., Sankhla N., and Smith B.N. 1985. Effect of paclobutrazol on the activities of some enzymes of activated oxygen metabolism and lipid peroxidation in senescing soybean leaves. Journal of Plant Physiology 121(5): 453-461. https://doi.org/10.1016/S0176-1617(85)80081-X.
55. Vuosku J., Karppinen K., Muilu-Mäkelä R., Kusano T., Sagor G.H.M., and Avia K. 2018. Scot's pine aminopropyl transferases shed new light on evolution of the polyamine biosynthesis pathway in seed plants. Annals of Botany 121: 1243–1256. https://doi.org/10.1093/aob/mcy012.
56. Wang M., Li B., Zhu Y.C., Niu L.J., Jin X., Xu Q.Q., and Liao W.B. 2015. Effect of exogenous nitric oxide on vegetative and reproductive growth of oriental lily 'Siberia'. Horticulture, Environment and Biotechnology 56(5): 677-686. https://doi.org/10.1007/s13580-015-0051-z.
57. Yousefi F., Jabbarzadeh Z., Amiri J., and Rasouli-Sadaghiani M.H. 2019. Response of Roses (*Rosa hybrida* L. 'Herbert Stevens') to foliar application of polyamines on root development, flowering, photosynthetic pigments, antioxidant enzymes activity and NPK. Scientific Reports 9(16025): 1-11. 025. https://doi.org/10.1038/s41598-019-52547-1.
58. Zeng C.L., Liu L., and Xu G.Q. 2011. The physiological responses of carnation cut flowers to exogenous nitric oxide. Scientia Horticulturae 127(3): 424-430. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2010.10.024.
59. Zhou R., Li Y., Yan L., and Xie J. 2011. Effect of edible coatings on enzymes, cell membrane integrity, and cell-wall constituents in relation to brittleness and firmness of Huanghua pears (*Pyrus pyrifolia* cv. Huanghua) during storage. Food Chemistry 124: 569-575. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.06.075.

Journal of Horticultural Science
https:// jhs.um.ac.ir

Research Article
Vol. 36, No. 1, Spring 2022, p. 213-228

Foliar Application of Nano Fe and Se Affected the Growth and Yield of *Pelargonium graveolens* under Salinity Stress

L. Vojodi Mehrabani[1]*, Y. Anvari Gheshlagh[2], A. Motallebi Azar[3]

Received: 13-04-2021
Revised: 24-04-2021
Accepted: 01-05-2021
Available Online: 20-06-2022

How to cite this article:
Vojodi Mehrabani L., Anvari Gheshlagh Y., and Motallebi Azar A. 2022. Foliar Application of Nano Fe and Se Affected the Growth and Yield of *Pelargonium graveolens* under Salinity Stress. Journal of Horticultural Science 36(1): 213-228. (In Persian with English abstract)
DOI: 10.22067/JHS.2021.69767.1041

Introduction

NaCl Salinity is one of the major environmental stressors affecting agricultural production everywhere. Salinity impacts the plants by the osmotic stress, nutritional imbalance with plants cells and by reducing the nutrients absorption and reactive oxygen species over-generation, as well as by ionic competition for the absorption, translocation, distribution and ion toxicity inside plants. Under salinity stress, plants develop various physiological and biochemical mechanisms to overcome this conditions, like ion homeostasis and compartmentalization, ion uptake, biosynthesis of osmoprotectants, activation of antioxidant enzymeic (superoxide dismutase, catalase, ascorbate peroxidase and glutathione peroxidase) and nonenzymic compounds (proline) to overcome salinity stress. Optimum nutrition under stressful saline conditions is important to overcome the problem and to produce optimum yield. *Pelargonium graveolens* is a plant commonly used in food and pharmaceutical industries. Iran has favorable micro-climates for the *Pelargonium graveolens*, production, and since this plants is in common use with diverse industries, this experiments was conducted to study the effects of foliar spray with Se and nano Fe on growth and physiological traits *Pelargonium graveolens* under NaCl salinity depression

Materials and Methods

Two separate experiments were concluded to evaluate the effects of foliar application of selenium and nano-Iron (0, 1.5 and 3 mgL^{-1}) on pelargonium under saline (0, 50 and 100 mM) conditions as factorial based on Completely Randomized Design. In the first experiment, the effects of magnetized Iron and in the second experiment, the effect of selenium were assayed on pelargonium growth and physiological traits (plant dry weight, enzymic activity, elemental content, essential oil percent and oil constituents) under salinity stress.

Results and Discussion

The results obtained from the first experiment showed that, the aerial parts dry weight, Na, Fe and H_2O_2 content, catalase activity and oil percent of *Pelargonium graveolens* were independently affected by the salinity and (1.5 and 3 mgL^{-1}) Fe foliar treatment. At the first experiment the highest amount of K/Na ratio, flavonoid content, K content, malondialdehyde, proline and superoxide dismutase activity were influenced by salinity stress. The top amount amount of plant dry weight, Fe content, K/Na, Na and superoxide dismutase activity were recorded at control plants. The top amounts of Na, proline, malondialdehyde, H_2O_2 content were recorded at 100 mM salinity stress. control and 50 mM NaCl increased oil percent in plants. Foliar spray with 1.5 and 3 mgL^{-1} Fe increased catalase, yield, phenolic content and oil percent in plants. At the second experiment; aerial parts dry weight, proline and flavonoid content were influenced by salinity stress. Catalase activity, malondialdehyde, superoxide dismutase activity and H_2O_2 content were influenced by sole effects of salinity and Se foliar

1 and 2- Associate Professor and M.Sc. Graduate of Department of Agronomy and Plant Breeding, Azarbaijan Shahid Madani University, Iran, respectively.
(*- Corressponding Author Email:vojodilamia@gmail.com)
3- Associate Professor, Department of Horticulture, Tabriz University, Tabriz, Iran

application. Under non saline condition, plant dry weight, superoxide dismutase activity, K content were increased in plant. With increasing salinity to 100 mM NaCl, proline, malondialdehyde and H_2O_2 content were increased. Se, Na content and K/Na ratio in the second experiment was influenced by the interaction effects of salinity and foliar spray. At the second experiment, the top amount of K/Na ratio were recorded at $NaCl_0 \times 1.5$ and 3 mgL^{-1} Se spray. The top amounts of Na were recorded at NaCl0 × no foliar application. The superoxide dismutase activity, malondialdehyde and K^+ were responded to the individual effects of salinity and Se treatment. The highest amounts of total phenolic content was attained by (1.5 and 3 mgL^{-1}) nano Fe and Se treatment in both experiment. With salinity of 50 and 100 mM, the flavonoids contend was increased at both experiments. Foliar spray with 1.5 and 3 mgL^{-1} Nano Fe and Se increased catalase activity in plants. 1.5 and 3 mgL^{-1} Se and nano Fe foliar application reduced H_2O_2 content in plant at both experiment. GC/MS analysis revealed that β-citronellol (12.5-20.5%) was the major constituent with control treatment Citronelly formate (10.75-25.2%) were the dominant constituents of oil control plants. B-Thujone (12.61%), trans-Rose oxide (2.85- 9 %) and the highest amounts of Aromadendrene (5.42 %) only recorded at control plants. Salinity stress and foliar spray had negative effects on α-Pinene biosynthesis and the highest amounts of α-Pinene was recorded in control plants. The top amounts of Geranyl formate (0.7-7.8 %) was recorded at $NaCl_{50} \times 1.5$ mgL^{-1} Fe spray. Y- muurolene (0.4 – 4.06 %) biosynthesis increased at NaCl50 × 1.5 mgL^{-1} Se.

Conclusion

Salinity stress involves changes in metabolic processes and various physiological traits, controlled by salinity stress severity. In total, salinity had negative effects on the growth and physiological responses of plants, however, foliar treatment with Se and Fe improved some physiological traits of *Pelargonium graveolens*.

Keywords: Enzyme activity, Essential oil, *Pelargonium graveolens*, Proline, Total phenolic content

نشریه علوم باغبانی
https:// jhs.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۶، شماره ۱، بهار ۱۴۰۱، ص ۲۲۸-۲۱۳

تأثیر سلنیوم و نانوذره آهن بر رشد و عملکرد شعمدانی عطری تحت تنش شوری کلریدسدیم

لمیا وجودی مهربانی[1*]- یعقوب انوری قشلاق[2]- علی‌رضا مطلبی‌آذر[3]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۱/۲۴
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۲/۱۱

چکیده

به‌منظور بررسی تأثیر محلول‌پاشی با نانوذره آهن و سلنیوم بر روی گیاه شعمدانی عطری تحت تنش شوری، دو آزمایش جداگانه بصورت فاکتوریل بر مبنای طرح کاملاً تصادفی اجرا شد. در آزمایش اول تاثیر محلول‌پاشی با نانوذره آهن (صفر، ۱/۵ و ۳ میلی‌گرم در لیتر) و در آزمایش دوم تاثیر محلول‌پاشی با سلنیوم (صفر، ۱/۵ و ۳ میلی‌گرم در لیتر) بر رشد و برخی صفات فیزیولوژیک شعمدانی عطری تحت تنش شوری (صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار کلریدسدیم) مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج آزمایش اول نشان داد وزن‌خشک بخش هوایی گیاه، فعالیت کاتالاز، محتوای آهن، سدیم، پراکسید هیدروژن و درصد اسانس شعمدانی تحت تاثیر اثرات مستقل تنش شوری و محلول‌پاشی با نانوذره آهن قرار گرفت. نسبت پتاسیم به سدیم، محتوای فلاونوئید، پتاسیم، مالون دی‌آلدئید، پرولین و فعالیت سوپراکسید دیسموتاز تحت تاثیر تنش شوری قرار گرفت. بالاترین عملکرد گیاه، محتوای آهن، نسبت پتاسیم به سدیم و فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در تیمار بدون تنش شوری مشاهده شد. بالاترین محتوای سدیم، پرولین، مالون دی‌آلدئید، پراکسید هیدروژن در تنش شوری ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم مشاهده شد. تیمار بدون تنش شوری و ۵۰ میلی‌مولار کلریدسدیم موجب افزایش درصد اسانس شعمدانی شد. تیمارهای محلول‌پاشی با هر دو سطح نانوذره آهن موجب افزایش محتوای کاتالاز، عملکرد، محتوای فنل و درصد اسانس شد. در آزمایش دوم عملکرد گیاه، محتوای پرولین و فلاونوئید تحت تاثیر تنش شوری قرار گرفت. محتوای کاتالاز، مالون دی‌آلدئید، فعالیت سوپراکسید دیسموتاز و پراکسید هیدروژن تحت تأثیر اثرات مستقل تنش شوری و محلول پاشی با سلنیوم قرار گرفت. تیمار بدون تنش شوری موجب افزایش عملکرد گیاه، فعالیت سوپراکسید دیسموتاز و پتاسیم گیاه شد. با افزایش تنش شوری به ۱۰۰ میلی‌مولار محتوای پرولین، مالون دی‌آلدئید و پراکسید هیدروژن در گیاه افزایش یافت. بیشترین فعالیت کاتالاز در تیمارهای بدون تنش شوری و تنش شوری ۵۰ میلی‌مولار کلریدسدیم مشاهده شد. محتوای سلنیوم، سدیم و نسبت پتاسیم به سدیم تحت تاثیر اثرات متقابل تنش شوری و محلول‌پاشی با سلنیوم قرار گرفت. محلول‌پاشی با ۱/۵ و ۳ میلی‌گرم در لیتر سلنیوم موجب افزایش محتوای کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، فنل کل و محتوای پتاسیم شعمدانی شد. نتایج حاصل از تجزیه GC/MS نشان داد که β-citronellol (۲۴/۵ -۱۲/۵ درصد) و Citronelly acetate (۱۸/۳۹ – ۱/۵۶ درصد) جزء غالب اسانس شعمدانی عطری در تیمار تنش شوری ۵۰ میلی‌مولار کلریدسدیم با محلول‌پاشی ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر سلنیوم و Citronelly formate (۲۵/۲ -۱۰/۷۵ درصد) جزء قالب اسانس در تیمار شاهد بود. در کل چنین می‌توان نتیجه‌گیری نمود که تنش شوری موجب کاهش صفات رشدی و فیزیولوژیک شعمدانی عطری شد. محلول‌پاشی با سلنیوم و نانوذره آهن نقش مهمی در بهبود صفات فیزیولوژیک گیاه داشت.

واژه‌های کلیدی: آنزیم، اسانس، پرولین، شعمدانی عطری، محتوای فنل کل

۱ و ۲- به‌ترتیب دانشیار و دانش آموخته کارشناسی ارشد گیاهان دارویی، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: vojodilamia@gmai.com)
۳- دانشیار گروه باغبانی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

DOI: 10.22067/JHS.2021.69767.1041

مقدمه

تنش شوری یکی از تنش‌های عمده محیطی مؤثر بر تولید محصولات کشاورزی در سراسر دنیا است (Munns and Tester, 2008). در مطالعات گسترده پیرامون شوری و تغذیه گیاهی، این مسئله به اثبات رسیده است که شوری موجب بروز ناهنجاری‌های گوناگون تغذیه‌ای در گیاه می‌شود که علت آن ممکن است مربوط به اثرات منفی شوری بر قابلیت جذب عناصر غذایی و تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و یا مربوط به اثر شوری در ایجاد رقابت بین یون‌ها برای جذب، انتقال و توزیع در بخش‌های مختلف گیاه باشد (Munns and Tester, 2008; Rady *et al.*, 2011;). تنش شوری تأثیر منفی بر رشد گیاه از طریق سمیت یونی، استرس اسمزی و تنش اکسیداتیو دارد (Munns and Tester, 2008). بسته شدن روزنه‌ها در اثر تنش شوری موجب کاهش مصرف NADPH در چرخهٔ کالوین می‌شود و به این طریق موجب ایجاد اختلال در انجام فرایندهای فیزیولوژیک گیاه می‌شود (Turkan and Demiral, 2009). وجود آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (سوپراکسید دیسموتاز در اولین خط دفاعی سلول بر علیه آسیب‌های ناشی از تنش قرار دارد که موجب حذف آنیون‌های سوپراکسیداز از سلول می‌شود) و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی نقش مهمی در کاهش آسیب ناشی از رادیکال‌های آزاد اکسیژن تولید شده در سلول دارد (Turkan and Demiral, 2009). گیاهان از مکانیسم‌های مختلفی برای مقابله با تنش شوری استفاده می‌کنند. درک اجزای تنش و مسیرهای پیام‌رسانی نقش مهمی در تنظیم واکنش گیاه به تنش شوری را دارد. بنابراین یافتن ترکیباتی که موجب افزایش تحمل گیاهان در مقابل تنش شوری باشد گامی مؤثر در جهت نیل به تولید پایدار در بخش کشاورزی می‌باشد. استفاده از فرم نانوکودهای آهن موجب بهبود رشد گیاه و عملکرد گیاه تحت شرایط تنش شوری می‌شود (Valizadeh Kamran *et al.*, 2017). آهن نقش مهمی در فعالیت آنزیمی، فرآیند تنفس، تشکیل کلروپلاست و فتوسنتز در گیاهان دارد (Valizadeh Kamran *et al.*, 2017). کاربرد سلنیوم تأثیر مثبت در کاهش تنش‌های زیستی و افزایش رنگدانه‌های فتوسنتزی، فرایند فتوسنتز، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و جذب پتاسیم دارد (Xue *et al.*, 2001).

شعمدانی عطری با نام علمی *Pelargonium graveolens* گیاهی علفی، معطر، چند ساله، از خانواده Geraniaceae می‌باشد. گیاهان این جنس از نظر صنعتی به‌دلیل دارا بودن خاصیت حشره‌کشی، ضد قارچ، ضد ویروس و ضد باکتری اهمیت دارند (Ghannadi *et al.*, 2012). اسانس شعمدانی عطری حاوی ژرانیول، سیترونلول و سیترونل فرمات است که نقش مهمی در صنایع داروسازی دارد (Ghannadi *et al.*, 2012). با توجه به موارد ذکر شده در بالا و نیز با توجه به اهمیت این گیاه در صنایع مختلف و وجود شرایط اقلیمی مستعد در ایران برای پرورش این گیاه هدف از بررسی حاضر ارزیابی تأثیر محلول‌پاشی با سلنیوم و نانو ذره آهن بر رشد و برخی صفات فیزیولوژیک شعمدانی عطری تحت شرایط تنش شوری می‌باشد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی اثرات تنش شوری کلریدسدیم (صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار) و محلول‌پاشی با سلنیوم و نانوذره آهن مغناطیسی (صفر، ۱/۵ و ۳ میلی‌گرم در لیتر) بر رشد و برخی صفات فیزیولوژیک شعمدانی عطری آزمایشی در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید مدنی آذربایجان انجام گرفت. قلمه‌های ریشه‌دار شده ۱۵ تا ۲۰ سانتی‌متری شعمدانی عطری در گلدان‌های ۵ لیتری حاوی پرلیت دانه متوسط کاشته شدند. از محلول نیم هوگلند (pH: 5.5-5.7) به‌منظور رشد اولیه گیاه و سازگاری گیاهان با شرایط گلخانه استفاده شد. گیاهان به‌مدت ۲۰ روز با محلول نیم‌هوگلند تغذیه شدند. بیست روز بعد از رشد گیاهان در مرحله ۶ تا ۸ برگی تنش شوری اعمال گردید. به‌منظور سازگار نمودن گیاهان به شرایط تنش، اعمال تنش شوری به‌تدریج و با غلظت ۲۵ میلی‌مولار نمک آغاز گردید. بعداز چهار روز با اضافه کردن ۲۵ میلی‌مولار دیگر نمک، سطح شوری گلدان‌ها به ۵۰ میلی‌مولار افزایش یافت و این روند تا رسیدن به سطح شوری ۱۰۰ میلی‌مولار نمک ادامه یافت. اولین محلول‌پاشی همزمان با اعمال تنش شوری و محلول‌پاشی دوم دو هفته بعد (در مرحله ۸-۱۱ برگی) انجام شد. سه‌هفته بعد از آخرین محلول‌پاشی (مرحله ۱۲-۱۵ برگی)، نمونه‌برداری از گیاهان انجام گرفت. به‌منظور اندازه‌گیری وزن‌خشک گیاه، نمونه‌ها از محل طوقه گیاه (سطح بستر کشت) بریده شده و در دمای اتاق خشک شدند. اندازه‌گیری وزن‌خشک گیاه با استفاده از ترازوی دیجیتال (BBI41, Boeco, Germany) انجام شد.

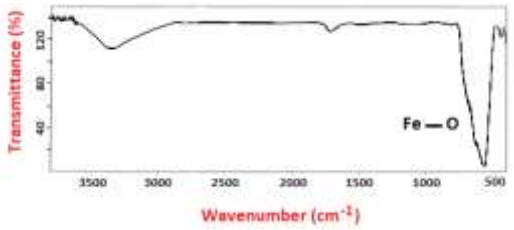
سنتز نانوذره آهن مغناطیسی

روش سنتز نانوذرات Fe_3O_4

۴/۸۳ گرم آهن کلرید شش آبه و ۳/۳۴ گرم آهن سولفات هفت آبه به آب اضافه شد و در دمای ۱۰۰ °C، بشدت همزده شد. بعد از انحلال کامل نمک‌ها، ۱۲ میلی‌لیتر آمونیاک غلیظ روی محلول‌ها اضافه شد و عمل هضم تا دو ساعت ادامه یافت. پس از سرد کردن بالن تا دمای اتاق، نانوذرات Fe_3O_4 با استفاده از آهن‌ربا از محلول واکنش جدا شده و در آون در دمای ۸۰ °C خشک گردید.

بررسی طیف FT-IR: شکل ۱ طیف FT-IR مربوط به نانو

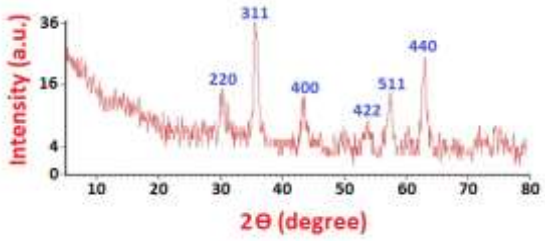
ذرات Fe_3O_4 را در محدوده cm^{-1} ۴۰۰۰–۵۰۰ نشان می‌دهد. همانطور که در روی شکل مشاهده می‌کنید پیکی در حوالی cm^{-1} ۵۷۰ دیده می‌شود که مربوط به ارتعاشات کششی Fe-O می‌باشد که نشان می‌دهد ذرات اکسید آهن به خوبی سنتز شده‌اند.



شکل ۱- طیف FT-IR نانو ذرات Fe_3O_4

Figure 1- FT-IR spectrum of Fe_3O_4 nano-particles

بررسی طیف XRD: پیک‌های ایجاد شده در 2θ های ۳۰/۰۰۷°، ۳۵/۶۰۱°، ۴۳/۲۳۹°، ۵۳/۷۸۲° و ۶۳/۰۵۸°، سنتز نانوذرات آهن را تایید می‌کند.



شکل ۲- طیف XRD نانو ذرات Fe_3O_4

Figure 2- XRD spectrum of Fe_3O_4 nano-particles

اندازه‌گیری وزن خشک گیاه: به‌منظور اندازه‌گیری وزن‌خشک گیاه، نمونه‌ها از محل طوقه گیاه (سطح بستر کشت) بریده شده و در دمای اتاق خشک شدند. اندازه‌گیری وزن خشک گیاه با استفاده از ترازوی دیجیتال (BBI41, Boeco, Germany) انجام شد.

اندازه‌گیری محتوای کاتالاز: برای اندازه‌گیری فعالیت کاتالاز، ۰/۵ گرم از برگ شعمدانی عطری در بافر فسفات پتاسیم سرد ۰/۱ مولار (PH: ۷/۵) حاوی EDTA ۰/۵میلی‌مولار هموژنیزه شد. ۰/۰۵ میلی‌لیتر از محلول رویی با ۱/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ میلی مولار (PH:۷) و ۱/۴۵ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر مخلوط شد. واکنش با افزودن ۰/۵ میلی‌لیتر پراکسید هیدروژن ۷۵ میلی‌مولار آغاز گردید. جذب نمونه‌ها ۲۴۰ نانومتر در مدت یک دقیقه ثبت شد (Luhova *et al.*, 2003).

محتوای پراکسید هیدروژن: ابتدا نمونه در نیتروژن مایع پودر شد سپس با ۵ میلی‌لیتر TCA یک درصد حجمی (حجمی/ وزنی) مخلوط گردید. روی ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول رویی، ۰/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۱۰ میلی مولار با pH: ۷/۵ و یک میلی‌لیتر یدید پتاسیم یک مولار اضافه شد. میزان جذب نمونه‌ها در ۳۹۰ نانومتر به کمک اسپکتروفتومتر قرائت گردید (Amaranathareddy *et al.*, 2015).

اندازه‌گیری محتوای مالون دی‌آلدئید: روی ۰/۲ گرم برگ ۵ میلی‌لیتر TCA یک درصد اضافه گردید. محلول حاصل در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. یک میلی‌لیتر از محلول رویی با ۴ میلی‌لیتر از مخلوط TCA 20% + TBA0.5 % مخلوط شد و به مدت ۳۰ دقیقه گرم شد. جذب نمونه‌ها به کمک اسپکتروفتومتر (T80+, China) در طول موج‌های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر قرائت شد (Heath and Packer, 1968).

محتوای سوپراکسید دیسموتاز: برای اندازه‌گیری از ۵۰ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار با pH حدود ۷/۵ استفاده شد. ۰/۱ میلی‌مولار از محلول EDTA، ۷۵ میکرومولار نیتروبلوتترازولیوم، ۱۳ میکرومولار متیونین و ۴ میکرومولار ریبوفلاوین به بافر اضافه و محلول درتاریکی نگهداری شد. جذب نمونه‌ها در ۵۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (Giannopolitis and Ries, 1977).

اندازه‌گیری محتوای پرولین: روی ۰/۲ گرم از نمونه برگ، ۵ میلی‌لیتر اسید سولفوسالسیلیک ۳ درصد اضافه شد. یک میلی لیتر از محلول‌رویی با یک میلی‌لیتر اسید نین هیدرین و یک میلی‌لیتر اسید گلاسیال مخلوط شد. سپس نمونه‌ها به مدت یک ساعت در حمام آب ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. جذب نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت شد (Fedina *et al.*, 2006).

اندازه‌گیری فلاونوئید و فنل کل: برای اندازه‌گیری محتوای فنل کل روی ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره متانولی، ۰/۳ میلی لیتر کلراید آلومینیوم ۱۰ درصد افزوده شد سپس جذب نمونه‌ها در ۵۱۰ نانومتر به‌وسیله اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد. محتوای کل فلاونوئیدها بر مبنای استاندارد روتین بیان شد (۱۸). برای اندازه‌گیری محتوای فنل کل از معرف فولن سیکالتو[1] استفاده شد. از اسید گالیک به عنوان استاندارد برای اندازه‌گیری ترکیبات فنلی استفاده شد. جذب نمونه‌ها، در طول موج ۷۵۰ نانومتر تعیین گردید (Kim *et al.*, 2006).

استخراج اسانس: روی ۳۰ گرم از نمونه‌های خشک شده برگ شعمدانی عطری، پودر شده ۳۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه و به‌مدت ۲/۵ ساعت اسانس‌گیری شد. از سولفات سدیم خشک برای آبگیری اسانس حاصل استفاده شد. برای شناسایی ترکیبات شیمیایی روغن فرار استخراج شده از دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC-Agilent

1- Folin Ciocalteu

(Technologies, 7890B مجهز به آشکارساز یونیزاسیون شعله‌ای (FID) متصل به یک آشکارساز طیف‌سنجی جرمی (MS - Agilent Technologies, 5977A) استفاده شد.

اندازه‌گیری عناصر برگ: از روش فلایم فتومتری (Corning, 410, England) برای اندازه‌گیری محتوای عناصر سدیم و پتاسیم و دستگاه جذب اتمی (Corning, 410, England)، برای اندازه‌گیری محتوای آهن و سلنیوم استفاده شد (AOAC, 1990).

طرح آزمایشی و آنالیز داده‌های آماری: آزمایش حاضر به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. برای تجزیه داده‌ها از برنامه‌های آماری SPSS استفاده شد. برای رسم شکل‌ها از برنامه Excell استفاده شد. میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد مقایسه شد.

نتایج و بحث

وزن‌خشک بخش هوایی گیاه

وزن‌خشک گیاه در آزمایش اول تحت تاثیر اثرات مستقل تنش شوری و محلول‌پاشی قرار گرفت (جدول ۱). بیشترین وزن‌خشک بخش هوایی گیاه در تیمار شاهد (بدون تنش شوری) مشاهد شد با افزایش تنش شوری به ۱۰۰ میلی‌مولار از وزن‌خشک بخش هوایی گیاه کاسته شد (جدول ۲). تیمار محلول‌پاشی با غلظت‌های ۱/۵ و ۳ میلی‌گرم در لیتر نانوذره آهن موجب افزایش وزن‌خشک بخش هوایی گیاه شد (جدول ۳). در آزمایش دوم وزن‌خشک بخش هوایی گیاه تحت تاثیر تیمار تنش شوری قرار گرفت و بالاترین عملکرد گیاه در تیمار بدون تنش شوری به میزان ۵۱۳ گرم بر متر مربع در تیمار بدون تنش شوری مشاهده شد. بررسی انجام شده در شعمدانی عطری (Vojoai Mehrabani, 2019) و شعمدانی (Hassanvand *et al.*, 2019) نشان داد که با افزایش تنش شوری رشد رویشی گیاه کاهش می‌یابد. شاید یکی از دلایل کاهش رشد رویشی گیاه تحت تنش شوری در اثر اختلال در توازن یونی ایجاد شده در گیاه در اثر تنش شوری باشد که منجر به جذب بیشتر یون سدیم و کلر تحت شرایط تنش شده و بدین ترتیب با ایجاد اختلال در فعالیت‌های متابولیکی گیاه (کاهش تقسیم سلول و فتوسنتز) و با کاهش بیوسنتز و انتقال جیبرلین و سیتوکینین در گیاه موجب کاهش رشد گیاه می‌شود (Vojodi Mehrabani *et al.*, 2018; Marschner, 1995). محلول پاشی با سولفات آهن تحت تنش شوری موجب افزایش عملکرد شاهسپرم شد (Valizadeh Kamran *et al.*, 2017). در بررسی انجام شده در انیسون مشخص شد که محلول‌پاشی با آهن نقش مثبت در افزایش عملکرد گیاه تحت شرایط تنش را داشت (Pirzad and Barin, 2018). آهن از اجزای مهم بسیاری از آنزیم‌ها می‌باشد و نقش مهمی در فرآیندهای بیولوژیکی مانند فتوسنتز، سنتز کلروفیل، تنفس و تثبیت نیتروژن درگیاه دارد. آهن به عنوان ناقل الکترون در فرآیند تنفس و فتوسنتز عمل می‌کند (Marschner, 1995). افزایش غلظت آهن در سلول‌های فتوسنتزی نشان‌دهنده اهمیت این عنصر در افزایش عملکرد گیاه می‌باشد. آهن در سلول‌های فتوسنتزی نقش مهمی در بیوسنتز سیتوکروم‌ها و سایر مولکول‌های دارای هم (کلروفیل و سیستم انتقال الکترون) دارد و با افزایش فتوسنتز کمک موثری به بهبود رشد گیاه می‌کند (Maschner, 1995).

فعالیت کاتالاز

در هر دو آزمایش فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تاثیر آثرات مستقل تنش شوری و تیمارهای محلول‌پاشی با سلنیوم و نانوذره آهن قرار گرفت (جدول ۱). در هر دو آزمایش تنش شوری ۵۰ میلی‌مولار کلریدسدیم و تیمار بدون تنش شوری موجب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز شد (جدول ۲). محلول‌پاشی با هر دو سطح آهن و سلنیوم موجب افزایش محتوای کاتالاز شد (جدول ۳). تیمار گیاهان تحت تنش شوری شوید با سلنیوم موجب افزایش محتوای آنزم کاتالاز در گیاه شد (Shekari *et al.*, 2017). نتایج مشابهی در خصوص کاهش در فعالیت کاتالاز در اثر تنش شوری در شاهسپرم گزارش شد محلول پاشی با سولفات آهن تحت تنش شوری موجب افزایش فعالیت کاتالاز در شاهسپرم شد (Valizadeh Kamran *et al.*, 2017). تحت شرایط تنش در اثر بتا اکسیداسیون اسیدهای چرب رادیکال‌های آزاد اکسیژن مانند پراکسید هیدوژن، هیدروکسیل و سوپراکسید در سلول تولید می‌شوندکه تاثیر مخرب بر سلول دارد. آنزیم‌های آنتی اکسیدانی مانند کاتالاز، پراکسیداز و اسکوربات پراکسیداز نقش مهمی در حذف یا کاهش اثرات سوء رادیکال‌های آزاد تولید شده در سلول‌های گیاهی را دارند. کاتالاز نقش مهمی در تبدیل پراکسید هیدروژن به آب و مولکول اکسیژن دارد و به این طریق موجب کاهش اثرات مخرب رادیکال‌های آزاد در سلول‌های گیاهی می‌شود (Vojodi Mehrabani, 2019; Hernandez *et al.*, 2019;).

محتوای پراکسید هیدروژن

در هر دو آزمایش تنش شوری ۱۰۰ میلی‌مولار موجب افزایش محتوای پراکسید هیدروژن در گیاه شد (جدول ۲). نتایج نشان‌دهنده افزایش تقریبا ۵۸ درصدی محتوای پراکسید هیدروژن نسبت به تیمار شاهد تحت تنش شوری بود. نتایج محلول‌پاشی با سلنیوم و نانوذره آهن مغناطیسی نشان داد که در هر دو آزمایش بیشترین محتوای پراکسید هیدروژن در تیمار بدون محلول‌پاشی مشاهده شد (جدول ۳). نتایج مشابهی در خصوص افزایش محتوای پراکسید هیدروژن تحت تنش شوری در شعمدانی عطری (Vojodi Mehrabani, 2019) و

رزمـاری (Vojodi Mehrabani *et al.*, 2018) گـزارش شـد. محلول‌پاشی با آهن موجب کـاهش محتـوای پراکسـید هیـدروژن در رزماری شـد (Hassanpouraghdam *et al.*, 2019). رادیکـال‌هـای آزاد اکسیژن تولید شده تحـت شـرایط تـنش شـوری در اثـر تخریـب غشای سلول (پروتئین و غشای فسفولیپیدی) موجب افزایش محتوای مالون دی‌آلدئیـد و پراکسـید هیـدروژن در گیـاه شـد (Marschner, 1995; Subramanyan *et al.*, 2019). کـاربرد سـلنیوم موجـب کاهش محتوای مالون‌دی‌آلدئید و محتوای پراکسید هیدروژن در بـرنج شـد کـه ایـن عمـل را از طریـق افـزایش سـطوح transcript و OSNHX1 در گیاه انجام می‌دهـد افـزایش بیـان OSNHX1 دراثـر کاررد سلنیوم موجب افزایش نسبت پتاسیم به سدیم در گیاه شده و به این طریق موجب محافظت از سلول در مقابل تنش‌شـوری مـی‌شـود (Subramanyan *et al.*, 2019). افزایش تجمع اسـید آبسـیزیک در اثر تنش شوری موجب تولید پراکسید هیدروژن در گیاه می‌شود که در این صورت گیاه به‌منظور کاهش اثرات منفی تجمع پراکسید هیدروژن نـاگزیر بـه افـزایش فعالیـت آنـزیم‌هـای آنتـی‌اکسـیدانی مـی‌شـود (Subramanyan *et al.*, 2019; Marschner, 1995).

محتوای مالون دی‌آلدئید

تنش شوری ۱۰۰ میلی‌مـولار کلریدسـدیم در آزمـایش اوا وجـب افزایش محتوای مالون‌دی‌آلدئید تا ۱۰۰ نانومول بر گرم وزن تـر گیـاه شد کمترین محتوای مالون دی‌آلدئیـد در تیمـار شـاهد مشـاهده شـد (جدول ۲). در آزمایش دوم تنش شوری ۱۰۰ میلی‌مولار کلریدسدیم، موجب افزایش ۴۰ درصدی محتوای مالون دی‌آلدئید نسبت بـه تیمـار شاهد شد. در آزمایش دوم محتوای مالون دی‌آلدئید عـلاوه بـر تـنش شـوری تحـت تـاثیر محلـول‌پاشـی بـا سـلنیوم نیـز قـرار گرفـت و محلول‌پاشی با سلنیوم موجب کاهش محتوای مالون دی‌آلدئید در گیاه شد (جدول ۳). محلول‌پاشی با غلظت ۱/۵ میلی‌گـرم در لیتـر سـلنیوم موجب کاهش حدودا ۲۴ درصدی محتـوای مـالون دی‌آلدئیـد نسـبت شاهد شد (جدول ۳). تنش شوری تـاثیر منفـی بـر شـاخص پایـداری غشای سـلول دارد. تـنش شـوری موجـب افـزایش محتـوای مـالون دی‌آلدئید گیاه شد اما محلول‌پاشی با سـلنیوم تحـت چنـین شـرایطی موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌آکسیدانی شده و موجب کـاهش محتوای مالون دی‌آلدئید در گیاه شد (Shekari *et al.*, 2017). به‌نظر می‌رسد افزایش نشت‌یونی در سلول به‌دلیل افزایش جذب غیرانتخابی یون سدیم در گیاهان تحت تنش شوری اتفاق می‌افتد (Marschner, 1995; Subramanyan *et al.*, 2019). تجمع پراکسـیدهیدروژن و رادیکال‌های سوپراکسـید در گیـاه در اثـر فعـال شـدن واکـنش‌هـای فتواکسیداتیو در گیاه تحت تنش شوری اتفاق افتاده و موجـب تجمـع رادیکال‌های سوپراکسید و پراکسـید هیـدروژن در گیـاه و آسـیب بـه غشای تیلاکوئید و کلروپلاسـت مـی‌شـود (Subramanyan *et al.*, 2019).

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز

در آزمایش اول فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز تحت تاثیر اثر مستقل تنش شوری قرار گرفت بالاترین فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در تیمار بدون تنش شوری مشاهده شد (جدول ۲). بـا افـزایش تـنش شوری به ۱۰۰ میلی‌مولار از فعالیت آنزیم ۲۴ درصد نسبت بـه تیمـار شاهد کاسـته شـد (جـدول ۲). در آزمـایش دوم فعالیـت سوپراکسـید دیسموتاز تحت تاثیر اثرات مسـتقل تیمـار محلـول‌پاشـی بـا ۱/۵ و ۳ میلی‌گرم در لیتر سلنیوم (جدول ۳) و تنش شوری (بدون کلرید سدیم) قرار گرفت (جدول ۲). در بررسی انجام شده در گوجه‌فرنگی مشخص شد که محلـول‌پاشـی سـلنیوم موجـب افـزایش فعالیـت سوپراکسـید دیسموتاز شد (Hernandez *et al.*, 2019). در سیستم دفاع آنزیمـی سوپراکسید دیسموتاز با رادیکال سوپر اکسـید واکـنش نشـان داده تـا پراکسید هیدروژن را به کمـک کاتـالاز بـه آب و اکسـیژن مولکـولی تجزیه کند تا از اثرات مضر آن‌ها در سلول کاسته شود (Betwal and Ram, 2019). استفاده از برخی عناصر غـذایی ریزمغـذی در شـرایط تنش شوری نقش مهمی در کاهش اثرات مخـرب رادیکـال‌هـای آزاد اکسـیژن در سـلول را دارد (Munns and Tester, 2008). نتـایج بررسی انجام شده در انگور (Mozafari *et al.*, 2018) نشان داد کـه محلول‌پاشی با سلنیوم تحت تنش شـوری موجـب افـزایش محتـوای سوپراکسید دیسموتاز در گیاه شد. نتایج مشابهی درخصـوص افـزایش در فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در شوید در اثر محلول‌پاشـی بـا سلنیوم تحت تنش شوری گزارش شد (Shekari *et al.*, 2017).

محتوای پرولین

در هر دو آزمـایش تـنش شـوری ۱۰۰ میلـی‌مـولار کلریدسـدیم موجب افزایش محتوای پرولین گیاه شد و کمترین محتوای پرولین در تیمار بدون تنش شوری مشاهده شد (جدول ۲). نتایج بررسـی انجـام شده شعمدانی (Hassanvand *et al.*, 2019) نشان داد که با افزایش تنش شوری بر محتوای پرولین گیاه افزوده شد. بررسی انجام شده در گیاه رزماری نشان داد که با افزایش تنش شوری بر محتـوای پـرولین گیاه افزوده شد و محلول‌پاشی بـا نـانوذره آهـن تـأثیری در افـزایش پرولین گیاه نداشت (Hassanpouraghdam *et al.*, 2019).

جدول ۱- تجزیه واریانس تاثیر محلول‌پاشی با سلنیوم و نانوذره آهن و تنش شوری بر وزن‌خشک ، فعالیت کاتالاز، محتوای پراکسید هیدروژن، مالون دی‌آلدئید، فعالیت سوپراکسید دیسموتاز، محتوای پرولین و فنل کل شعمدانی عطری

Table 1- ANOVA for the Se and nano Fe spray and salinity on aerial part dry weight, catalase activity, H_2O_2 content, malondialdehyde, superoxide dismutase activity, Proline and total phenolics content of P*elargonium graveolens*

آزمایش Experiment No.	منابع تغییرات Source of variation	درجه آزادی df	وزن خشک بخش هوایی گیاه Aerial part dry weight	فعالیت کاتالاز Calatase activity	محتوای پراکسید هیدروژن H_2O_2 content	محتوای مالون دی آلدئید Malondialdehyde content	فعالیت سوپراکسید دیسموتاز Superoxide dismutase activity	محتوای پرولین Proline content	محتوای فنل کل Total phenolics content
1	شوری Salinity	2	71045^{**}	165^{**}	7.2^{**}	4927^{**}	3.13^{**}	7948^{**}	4.7^{ns}
	محلول‌پاشی با آهن Fe spray	2	19^{*}	116^{**}	0.82^{**}	470.4^{ns}	0.7^{ns}	41.3^{ns}	98^{**}
	شوری × محلول‌پاشی با آهن Salinity × Fe spray	4	469^{ns}	2^{ns}	0.01^{ns}	31.5^{ns}	0.01^{ns}	6.3^{ns}	4^{ns}
	خطا Erorr	18	5752	16.8	0.047	256.1	0.094	153.4	6.2
2	شوری Salinity	2	65052^{**}	67.8^{*}	5.8^{**}	4650^{**}	2.45^{**}	7739^{**}	5.1^{ns}
	محلول‌پاشی با سلنیوم Se spray	2	9438^{ns}	98.9^{*}	1.1^{**}	1148^{*}	0.50^{**}	34^{ns}	2.7^{*}
	شوری × محلول‌پاشی با سلنیوم Salinity × Se spray	4	432^{ns}	3.7^{ns}	0.039^{ns}	49.1^{ns}	0.035^{ns}	29.7^{ns}	3.5^{ns}
	خطا Erorr	18	6534	17.1	0.325	225	0.34	125	4.8

^{ns}، *و **به ترتیب به مفهوم عدم اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می‌باشند.

^{ns}, *, and ** are non-significant and significant at $p\leq0.05$ and $p\leq0.01$, respectively.

جدول ۲- تاثیر تنش کلریدسدیم بر وزن‌خشک بخش هوایی گیاه، محتوای پراکسید هیدروژن، فعالیت کاتالاز، محتوای مالون دی‌آلدئید، فعالیت سوپراکسید دیسموتاز، محتوای پرولین و فلاونوئید شعممدانی عطری

Table 2- The effects of NaCl salinity on plant dry weight, H_2O_2 content, catalase activity, malondialdehyde content, Superoxide dismutase activity, proline and flavonoids content of P*elargonium graveolens*

آزمایش Experiment No.	تنش شوری Salinity stress (mM NaCl)	وزن خشک بخش هوایی گیاه Aerial part dry weight ($g.m^{-2}$)	فعالیت آنزیم کاتالاز Catalase activity ($units.mg^{-1}$ protein)	محتوای پراکسید هیدروژن H_2O_2 content ($\mu molg^{-1}$ FWt)	محتوای مالون دی آلدئید Malondialdehyde content ($nmol.g^{-1}$ FWt)	فعالیت سوپراکسید دیسموتاز Superoxide dismutase activity ($units.\ mg^{-1}$ Portein)	محتوای پرولین Proline Content ($\mu g.g^{-1}$ FWt)	محتوای فلاونوئید Flavonoids content ($mg.\ g^{-1}$ FWt)
1	0	566^{a}	42.1^{a}	1.3^{c}	54.5^{b}	5^{a}	45.3^{c}	3.1^{b}
	50	458^{b}	38.3^{a}	2.3^{b}	70^{b}	4.3^{b}	72^{b}	3.8^{a}
	100	390^{b}	33.5^{b}	3.1^{a}	100^{a}	3.8^{c}	104^{a}	3.7^{a}
2	0	513^{a}	40^{a}	1.3^{c}	5.2^{c}	4.8^{a}	43.1^{c}	2.5^{b}
	50	420^{b}	38^{ab}	2.3^{b}	65.2^{b}	4.3^{b}	66^{b}	3.2^{a}
	100	378^{c}	35^{b}	2.9^{a}	94.8^{a}	3.8^{c}	101^{a}	3.4^{a}

میانگین‌ها با حرف مشابه در هر ستون براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

In each column the means witrh similar letters are not significantly different at 5% levls based on Duncan's test.

جدول ۳- تاثیر محلول‌پاشی سلنیوم و نانو ذره آهن بر وزن‌خشک بخش هوایی گیاه، فعالیت آنزیم کاتالاز، محتوای پراکسید هیدروژن، مالون دی-آلدئید، فعالیت سوپراکسید دیسموتاز، محتوای فنل کل، درصد اسانس، محتوای سدیم، پتاسیم و آهن شعمدانی عطری

Table 3- The effects of Se and nano Fe spray on plant dry weight, catalase activity, H_2O_2 content, malondialdehyde content, Superoxide dismutase activity, total phenol content and essential oil percent, Fe, Na and K contents of *Pelargonium graveolens*

آزمایش Experiment No.	محلول-پاشی Spray ($mg.l^{-1}$)	وزن خشک بخش هوایی گیاه Aerial part dry weight ($g.m^{-2}$)	فعالیت آنزیم کاتالاز Calatase activity (units.mg^{-1} protein)	محتوای پراکسید هیدروژن H_2O_2 content (µmol.g^{-1} FWt)	محتوای مالون دی آلدئید Malondialdehyde content (nmol.g^{-1} fwt)	فعالیت سوپراکسید دیسموتاز Superoxide dismutase activity (units.mg^{-1} protein)	محتوای فنل کل Total phenolics content (mg.g^{-1} FWt)	درصد اسانس Essential oil percent (%)	محتوای سدیم Na content (g.kg^{-1})	محتوای پتاسیم K content (g.kg^{-1})	محتوای آهن Fe content (mg.kg^{-1})
1	0	418^b	34^b	2.6^a	83^a	–	18.6^b	8.8^b	9.8^a	–	24^b
	1.5	502^a	41.2^a	2.1^b	72^a	–	24.6^a	12.5^a	7.7^b	–	29.6^a
	3	493^{ab}	38.6^a	2^b	69^a	–	24.1^a	12.2^a	7.2^b	–	32.2^a
2	0	–	39^b	2.6^a	83.3^a	4^b	18.6^b	–	–	8.4^b	–
	1.5	–	52^a	1.9^b	64^b	4.4^a	21.7^a	–	–	10.2^a	–
	3	–	60^a	2.0^b	62^b	4.5^a	20.7^a	–	–	10.8^a	–

میانگین‌ها با حرف مشابه در هر ستون براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

In each colum the means witrh similar letters are not significantly different at 5% levls based on Duncan's test.

تحت شرایط تنش شوری تولید ترکیباتی با وزن مولکولی پایین مانند پرولین نقش مهمی در تعدیل پتانسیل اسمزی سلول، جلوگیری از جذب یون‌های سدیم و کلرید و حفاظت از فسفولیپیدهای غشای سلول را دارد پرولین نقش مهمی در از بین بردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن و کاهش اسیدی شدن سلول دارد و به این طریق به بقای سلول تحت شرایط تنش کمک می‌کند (Rady *et al.*, 2011). به‌نظر می‌رسد تحت شرایط تنش شوری پرولین با اتصال به یون‌های فلزی موجب کاهش اثرات مضر آنها در گیاه شود. چنین به‌نظر می‌رسد پاسخ فیزیولوژیکی مناسب گیاه باید قبل از وقوع آسیب‌های تنش در گیاه ظاهر شود تا گیاه بتواند شرایط تنش را تحمل کند بیان ژن PDH در زمان مناسب مواجه با تنش در گیاه آرابیدوپسیس موجب تولید پرولین و مقاومت گیاه در مقابل تنش می‌شود (Hare *et al.*, 1999).

محتوای فنل کل و فلاونوئید

هر دو سطح محلول‌پاشی با سلنیوم و نانوذره آهن موجب افزایش محتوای فنل کل نسبت به تیمار شاهد شد (جدول ۳). محتوای فلانوئید در هر دو آزمایش تحت تاثیر تیمارهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار کلریدسدیم قرار گرفت (جدول ۲). در بررسی انجام شده در رزماری (Hassanpouraghdam *et al.*, 2019) و شعمدانی عطری (RezaeiNejad *et al.*, 2020) مشخص شد که محلول‌پاشی با آهن موجب افزایش محتوای فنل گیاه شد. در تحقیق انجام شده در گوجه‌فرنگی مشخص شد که محلول‌پاشی سلنیوم موجب افزایش محتوای فلاونوئید گیاه شد (Hernandez *et al.*, 2019). گیاهان برای مقابله با تنش اُکسیداتیو ایجاد شده، در اثر تنش مجهز به سیستم دفاع آنتی اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی می‌باشند. تغذیه مناسب گیاه نقش زیادی در بیوسنتز ترکیبات فنلی در گیاه دارد. شاید یکی از دلایل افزایش محتوای ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در اثر محلول‌پاشی با نانوذره آهن به‌دلیل افزایش فتوسنتز گیاه و اختصاص کربوهیدرات بیشتر به مسیر اسید شیکمیک باشد که نهایتا موجب افزایش تولید متابولیت ثانویه در گیاه می‌شود. بدین طریق موجب محافظت گیاه در برابر رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شوند. تغذیه گیاه کاهو با سلنیوم موجب افزایش بیان ژن‌های UFGT و F3H در گیاه گردید که نقش مهمی در افزایش محتوای ترکیبات فنلی در گیاه داشت (Liu *et al.*, 2006). افزایش در فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز دراثر تیمار با سلنیوم در سیرگزارش شد (Khademi *et al.*, 2018). افزایش فعالیت آنزیم موجب افزایش بیوسنتز ترکیبات فنلی می‌شود که نقش مهمی در کاهش رادیکال‌های آزاد اکسیژن را دارد (Khademi *et al.*, 2018).

درصد اسانس و اجزای اسانس

اثرات مستقل تنش شوری و محلول‌پاشی با نانوذره آهن محتوای اسانس گیاه را در آزمایش اول تحت تاثیر قرار داد (جدول ۴). بالاترین محتوای اسانس در تیمار بدون تنش شوری و تنش شوری ۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم مشاهده شد (جدول ۵). محلول‌پاشی با نانوذره آهن موجب افزایش درصد اسانس در هر دو سطح محلول‌پاشی شد که نشان‌دهنده افزایش ۲۹ درصدی نسبت به تیمار

شاهد بود (جدول ۳). تنش شوری، درصد اسانس را در اغلب گیاهان دارویی افزایش می‌دهد که دلیل آن افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه درگیاه است. نتایج بررسی انجام شده در گیاه شاهسپرم (Valizadeh Kamran *et al*., 2017) نشان داد که محلول‌پاشی با آهن موجب افزایش محتوای اسانس گیاه گردید. شاید یکی از دلایل افزایش محتوای اسانس گیاه در اثر محلول‌پاشی با آهن مربوط به افزایش فتوسنتز، فعالیت آنزیم‌ها و تثبیت نیتروژن گیاه باشد (Marschner, 1995; Miller *et al*., 1995;). سطح ویژه زیاد نانوذرات موجب افزایش اثر بخشی آنها شده و به این طریق به افزایش محتوای اسانس گیاه کمک می‌کند. تغییر در محتوای اسانس و اجزای آن در اثر تنش شوری در گیاه از طریق تغییر در فعالیت آنزیم‌های درگیر در بیوسنتز ترپینوئیدها و فنیل پروپانوئیدها و تغییر در نسبت سیتوکینین به اسید آبسیزیک در گیاه انجام می‌شود (Marschner, 1995 ; Miller *et al*., 1995). نتایج حاصل از آنالیز GC/MS نشان دهنده وجود ۳۶ ترکیب در اسانس شعمدانی عطری بود (جدول ۶). β-citronellol جزء غالب (۱۲/۵ – ۲۰/۵ درصد) اسانس شعمدانی عطری بود. بالاترین میزان این ترکیب در تیمار تنش شوری۵۰ میلی‌مولار با محلول‌پاشی سلنیوم مشاهده شد و کمترین جزء β-citronellol در تیمار تنش شوری ۱۰۰ میلی‌مولار با محلول‌پاشی سلنیوم مشاهده شد. بالاترین میزان Citronelly formate (۱۰/۷۵ –۲۵ درصد) در تیمار شاهد مشاهده شد. یکی از ترکیباتی که بیوسنتز آن تحت تاثیر تنش شوری و تیمار محلول‌پاشی قرار گرفت Geraniol (۹– ۱/۲ درصد) بود. بیشترین مقدار این جزء در تیمار تنش شوری ۵۰ میلی‌مولار با محلول‌پاشی سلنیوم مشاهده شد. بیوسنتز Geranyl isobutyrate (۲ درصد) و Caryophyllene oxide (۲/۲ – ۵/۴ درصد) تحت تاثیر تیمار تنش ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم و محلول‌پاشی با نانوذره آهن قرار گرفت. تیمار تنش شوری ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم و محلول‌پاشی با سلنیوم موجب افزایش محتوای β-cadinene (۳/۲ –۲/۴۷ درصد) نسبت به سایر تیمارها شد. تیمار ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم و محلول‌پاشی آهن، بیوسنتز Bicyclogermacrene (۲/۹ درصد)، α-Humulene (۱/۱۷ درصد) و Germacrene -D (۱/۱– ۴/۳ درصد) را تحت تاثیر قرار داد. تنش شوری و تیمارهای مورد استفاده در محلول‌پاشی موجب کاهش جزء α–Pinene (۱/۴– ۹/۴۸درصد) در گیاه شد و بیشترین مقدار آن در تیمار شاهد مشاهده شد. β-Thujone (۱۲/۶۱ درصد) در تیمار شاهد مشاهده شد و تنش شوری و تیمارهای مورد استفاده در محلول‌پاشی تاثیری در بیوسنتز این جز نداشتند. بیشترین جزء Cis-Rose oxide (۶/۳۴– ۲) در تیمار تنش شوری ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم و محلول‌پاشی با سلنیوم مشاهده شد. تنش و تیمارهای مورد استفاده در محلول‌پاشی تاثیر منفی بر بیوسنتز trans-Rose oxide (۹ – ۱/۴۹) و Menthone (۱۲/۳– ۵/۳) داشته و بیشترین جزء این ترکیب در تیمار شاهد مشاهده شد. تنش شوری ۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم و محلول‌پاشی با سلنیوم موجب افزایش محتوای Citronelly acetate (۱۸/۳۹ – ۱/۵۶ درصد) شد (جدول ۶). محافظت گیاه در مقابل آفات و بیماری‌ها، جذب حشرات گرده افشان، محافظت گیاه در مقابل جانوران علف‌خوار و بیماری‌های قارچی از مهمترین وظایف اسانس در گیاه است (Sadeghi *et al*., Dudareva *et al*., 2004 ; 2014; Narnolisa *et al*., 2019). دربررسی انجام شده در شعمدانی عطری مشخص شد که عمده‌ترین اجزای اسانس این گیاه شامل citronellol, geraniol, linalool, و citronellyl formate می‌باشد (Narnolisa *et al*., 2019; Dzamic *et al*., 2014 ;). در تحقیق انجام شده در شعمدانی مشخص شد که محتوای Geraniol در پاییز در گیاه کاهش یافت و غلظت Citronellol در بهار در گیاه افزایش می‌یابد نسبت Citronellol/Geraniol به عنوان یک شاخص حساس و مهم از تغییر در اجزای اسانس این گیاه می‌باشد (Doimo *et al*., 1999). در بررسی انجام شده ه در نعناع مشخص شد که کاهش محتوای اسانس تحت تنش شوری به‌دلیل کاهش تولید سیتوکینین در ریشه و انتقال آن به بخش هوایی گیاه و افزایش اسید آبسیزیک در گیاه می‌باشد (Charles *et al*., 1990). در تحقیق انجام شده در ریحان مشخص شد که محلول‌پاشی روی و آهن موجب افزایش محتوای لینالول، سابینن و کادینول در گیاه شد (Said-Al Ahl and Mohmood, 2010).

محتوای سدیم، پتاسیم و نسبت پتاسیم به سدیم

در آزمایش اول محتوای سدیم تحت تاثیر اثرات مستقل تیمارهای آزمایشی قرار گرفت (جدول ۴) و بالاترین محتوای سدیم در تنش شوری ۱۰۰ میلی‌مولار کلریدسدیم به میزان ۱۴/۸ گرم بر کیلوگرم وزن‌خشک گیاه مشاهده شد (جدول ۵). محتوای پتاسیم و نسبت پتاسیم به سدیم در آزمایش اول تحت تاثیر تنش شوری قرار گرفت و بیشترین محتوای آن در تیمار بدون تنش شوری مشاهده شد (جدول ۵).

در آزمایش دوم محتوای سدیم و نسبت پتاسیم به سدیم تحت تاثیر اثرات متقابل تنش شوری و محلول‌پاشی با سلنیوم در سطح احتمال ۵ درصد قرار گرفت (شکل ۵) و بیشترین محتوای سدیم در تیمار تنش شوری ۱۰۰ میلی‌مولار کلریدسدیم بدون محلول‌پاشی مشاهده شد (شکل ۳). تیمار بدون تنش شوری و محلول‌پاشی شده با ۱/۵ و ۳ میلی‌گرم در لیتر سلنیوم موجب افزایش نسبت پتاسیم به سدیم در گیاه شد (شکل ۴).

کاهش شدید در نسبت پتاسیم به سدیم در تیمار ۱۰۰ میلی‌مولار کلریدسدیم در تمامی سطوح محلول‌پاشی مشاهده شد. محتوای

پتاسیم تحت تاثیر اثرات مستقل تیمارهای آزمایشی بود (جدول ۴). بالاترین محتوای پتاسیم در تیمارهای محلول‌پاشی با ۱/۵ و ۳ میلی‌گرم در لیتر سلنیوم حاصل شد (جدول ۳). تنش شوری کلریدسدیم با ایجاد اختلال در جذب سایر عناصر غذایی از طریق ایجاد رقابت یونی موجب کاهش جذب سایر عناصر غذایی (منیزیم، کلسیم و پتاسیم) می‌شود. افزایش تجمع سدیم در سیتوپلاسم موجب ایجاد اثرات سمیت در متابولیسم سلول می‌شود. افزایش شدید سدیم و کاهش پتاسیم موجب ناتوانی ناقل‌های انتقال‌دهنده پتاسیم در غشای سلول می‌شود که نهایتا منجر به زردی و پیری برگ می‌شود (Marschner, 1995).

جدول ۴- تجزیه واریانس تاثیر محلول‌پاشی سلنیوم، نانوذره آهن و تنش شوری بر محتوای فلاونوئید، درصد اسانس و محتوای عناصر شعمدانی عطری

Table 4- ANOVA for the Se and nano Fe spray and salinity on flavonoid content, essential oil percent, and element contents of *Pelargonium graveolens*

آزمایش Experiment No.	منابع تغییرات Source of variation	درجه آزادی df	محتوای فلاونوئید Flavonoids content	درصد اسانس Essential oil percent	محتوای سدیم Na content	محتوای پتاسیم K content	نسبت پتاسیم به سدیم K/Na	محتوای آهن Fe content	محتوای سلنیوم Se content
1	شوری Salinity	2	1.2^{*}	14.1^{**}	331^{**}	44.9^{**}	31.9^{**}	502^{**}	89^{*}
	محلول‌پاشی با آهن Fe spray	2	0.34^{ns}	36.4^{**}	10.4^{**}	3.07^{ns}	0.28^{ns}	159^{*}	0.25^{ns}
	شوری ×محلول-پاشی با آهن Salinity × Fe spray	4	0.06^{ns}	3.0^{ns}	1.1^{ns}	0.86^{ns}	0.17^{ns}	9.8^{ns}	1.64^{ns}
	خطا Erorr	18	0.22	5.09	1.22	1.76	0.143	27.5	26
2	شوری	2	1.8^{**}	17.3^{ns}	245^{**}	59.7^{**}	73^{**}	378^{**}	157^{**}
	محلول‌پاشی با سلنیوم Se spray	2	0.6^{ns}	6.2^{ns}	38^{**}	14.2^{*}	8.4^{**}	33^{ns}	720^{**}
	شوری × محلول-پاشی با سلنیوم Salinity × Se spray	4	0.08^{ns}	1.7^{ns}	6^{*}	0.32^{ns}	3.5^{**}	3.8^{ns}	231^{**}
	خطا Erorr	18	0.29	8.33	1.8	2.4	0.34	12.4	47.9

^{ns}، *و **به ترتیب به مفهوم عدم اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می‌باشند.

^{ns}, *, and ** are non-significant and significant at $p\leq0.05$ and $p\leq0.01$, respectively.

جدول ۵- تاثیر تنش کلریدسدیم بر درصد اسانس و محتوای عناصر در شعمدانی عطری

Table 5- The effects of NaCl salinity on essential oil percent and elemental content on P*elargonium graveolens*

آزمایش Experiment No.	شوری Sainity ($mg.l^{-1}$ NaCl)	درصد اسانس Essential oil percent	محتوای سدیم Na content ($g.Kg^{-1}$)	محتوای پتاسیم K content ($g.Kg^{-1}$)	نسبت پتاسیم به سدیم K/Na	محتوای آهن Fe content ($mg.Kg^{-1}$)	محتوای سلنیوم Se content ($mg.Kg^{-1}$)
1	0	11.1^{a}	2.6^{c}	10^{a}	3.8^{a}	36.8^{a}	39.6^{a}
	50	12.5^{a}	8.7^{b}	7.7^{b}	0.87^{b}	26^{b}	35.2^{ab}
	100	10^{b}	14.8^{a}	5.6^{c}	0.38^{c}	22^{b}	25.5^{b}
2	0	–	–	12.5^{a}	–	33.4^{a}	–
	50	–	–	9.6^{b}	–	24^{b}	–
	100	–	–	7.3^{c}	–	20.8^{b}	–

میانگین‌ها با حرف مشابه در هر ستون براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

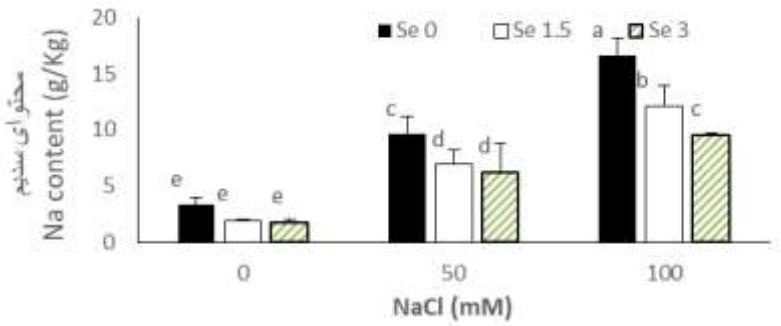
In each colum the means witrh similar letters are not significantly different at 5% levls based on Duncan's test.

جدول ۶- اجزا اسانس (درصد) گیاه شعمدانی عطری رشد یافته تحت تنش شوری کلرید سدیم (صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار) و محلول‌پاشی شده با ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر سلنیوم و نانوذره آهن

Table 6- Oil constituent (%) of *Pelargonium graveolens* grown under NaCl salinity (0, 50 and 100 mM) and foliar application of 1.5 mg.L^{-1} Se and nano-Fe

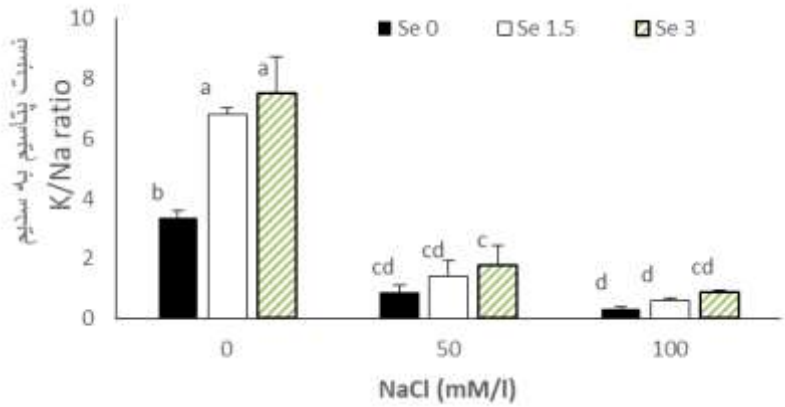
ردیف Row	ترکیبات Constituents	RT	RI	control	$NaCl_{100}$*Se	$NaCl_{50}$*Se	$NaCl_{100}$*Fe	$NaCl_{50}$*Fe
1	α-Pinene	4.43	935	9.48	3.58	2.58	1.41	3.54
2	phellandrine	6.3	1007	-	0.92	0.36	0.62	0.55
3	linalool	7.34	1095	-	0.26	0.5	0.76	0.51
4	β-Thujone	7.48	1123	12.61	-	-	-	-
5	Cis-Rose oxide	7.49	1107	2.73	6.34	-	2.81	2.05
6	trans-Rose oxide	7.79	1124	9	-	4.47	1.49	2.85
7	citronellal	8.25	1132	-	0.55	0.92	0.94	0.72
8	Menthone	8.97	1152	12.3	6.2	6.03	5.38	8.07
9	β-citronellol	9.23	1227	20.5	12.5	24.37	23.3	23.5
10	Citronelly formate	10.71	1262	25.2	10.75	-	12.51	17.92
11	β-bourbonene	12.97	1374	-	2.05	-	1.61	2.26
12	Trans-caryophyllene	13.6	1417	-	2.13	3.31	–	3.81
13	α-Humulene	14.22	1440	-	-	-	1.17	-
14	Germacrene -D	14.48	1483	4.31	1.13	2.42	4.6	2.81
15	Farnesene	14.56	1499	-	1	-	-	2.75
16	Bicyclogermacrene	15.17	1475	-	-	-	2.93	-
17	Y- muurolene	15.19	1307	-	0.45	4.06	2.3	0.4
18	Calarene	15.37	1544	-	-	-	0.39	-
19	β-cadinene	15.75	1491	2.99	3.02	3.27	2.47	2.56
20	Geraniol	16.41	1255		1.21	14.6	7.3	9
21	Geranyl isobutyrate	16.43	1232	-	-	-	2	-
22	(+)Spathulenol	16.97	157	-	0.89	-	0.98	-
23	Caryophyllene oxide	17	1584	-	2.22	2.6	5.45	2.26
24	Phenylethyl tiglate	17.09	1393	-	4.09	-	-	-
25	α- cabebene	17.63	1351	-	0.81	-	-	-
26	Citronellyl isobutyrate	17.71	1483	-	1.22	-	-	-
27	Aromadendrene	17.71	1441	5.42	-	1.02	0.77	–
28	α- copaene	17.90	1376	-	3.86	-	0.87	-
29	Y-cadinene	18.19	1505	-	-	0.25	0.87	-
30	β- bisabolene	18.55	1500	1.61	1.66	2.77	3.6	1.13
31	Citronelly acetate	18.70	1356	-	12.87	18.39	-	1.56
32	Citronelly propionate	18.8	1446	-	10.32	1.12	3.8	0.15
33	Geranyl formate	19.23	1289	-	2.33	0.7	2.06	7.80
34	Neryl acetate	19.52	1342	-	3.06	0.13	-	1
35	Geranyl propionate	20.16	1447	-	1.49	-	1.43	-
36	Citronellyl valerate	21.23	1600	-	1.2	0.32	1.79	2.42
جمع				95.15	98.11	94.19	95.61	99.62

افزایش در محتوای پتاسیم در گیاهان رشد کرده تحت شرایط تنش یکی از فاکتورهای مقاومت گیاه در مقابل تنش شوری می‌باشد پتاسیم نقش مهمی در تنظیم پتانسیل اسمزی سلول‌های ریشه، انتقال مواد محلول در آوند چوبی، تنظیم حرکات روزنه‌ای و توازن آبی گیاه دارد (Munns and Tester, 2008). تحت تنش شوری کاربرد سلنیوم نقش مهمی در جلوگیری از جذب کلر و سدیم توسط گیاه داشته و به‌این طریق مانع آسیب وارده به سلول تحت تنش شوری می‌شود.



شکل ۳- اثرات متقابل تنش شوری × محلول‌پاشی (صفر، ۱/۵ و ۳ میلی‌گرم در لیتر) سلنیوم بر محتوای سدیم شعمدانی عطری

Figure 3- The interaction effects of salinity ×foliar spray of Se (0. 1.5 and 3 mg.L^{-1}) on Na content of *Pelargonium graveolens* (DMRT, $p\leq0.05$)



شکل ۴- اثرات متقابل تنش شوری ×و محلول‌پاشی (صفر، ۱/۵ و ۳ میلی‌گرم در لیتر) سلنیوم بر نسبت پتاسیم به سدیم شعمدانی عطری

Figure 4- The interaction effects of salinity ×foliar spray of Se (0, 1.5 and 3 mg.L^{-1}) on K/ Na ratio of *Pelargonium graveolens* (DMRT, $p\leq0.05$)

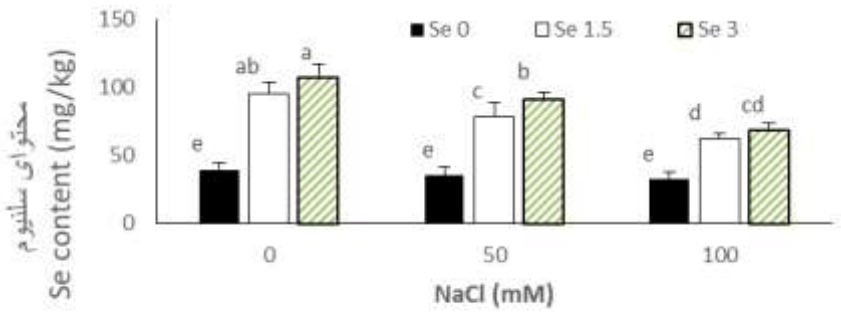
محتوای آهن

اثرات مستقل تنش شوری و محلول‌پاشی با نانوذره آهن، محتوای آهن گیاه را در آزمایش اول تحت تاثیر قرار داد (جدول ۴). بیشترین محتوای آهن در تیمار بدون تنش شوری مشاهده شد (جدول ۵). محلول‌پاشی با هر دو سطح ۱/۵ و ۳ میلی گرم در لیتر نانوذره آهن موجب افزایش محتوای آهن گیاه به میزان ۲۹/۶ و ۳۲/۲ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک گیاه شد (جدول ۳). در آزمایش دوم محتوای آهن تحت تاثیر اثر مستقل تنش شوری قرار گرفت (جدول ۴) و بالاترین محتوای آهن در تیمار بدون تنش شوری به میزان ۳۳/۴ میلی‌گرم در کیلوگرم مشاهده شد (جدول ۵). در تحقیق انجام شده در گیاه رزماری مشخص شد که محلول‌پاشی گیاه با آهن موجب افزایش محتوای آهن گیاه شد (Hassanpouraghdam *et al.*, 2019). نتایج مشابهی در خصوص افزایش محتوای آهن گیاه در اثر محلول‌پاشی با نانو ذره آهن در گیاه نعناع گزارش شد (Askary *et al.*, 2017). آهن از عناصر ضروری مورد نیاز برای فعالیت آنزیم‌های سیتوکرومی، تنفس، فتوسنتز و بیوسنتز DNA و RNA می‌باشد. آهن نقش مهمی در زنجیره انتقال الکترون، آنزیم کلروفیل‌سینتاز و حفظ ساختار کلروپلاست دارد (Marschner, 1995). شاید دلیل افزایش محتوای آهن در اثر محلول‌پاشی با نانوذرات آهن مربوط به سطح ویژه نانوذرات باشد که موجب افزایش تاثیر آنها شده است (Wannoussa *et al.*, 2015).

محتوای سلنیوم

در آزمایش اول تنش شوری ۰ و ۵۰ میلی‌مولار کلریدسدیم موجب افزایش محتوای سلنیوم به میزان ۳۹/۶ و ۳۵/۲ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک شعمدانی شد (جدول ۵). اما در آزمایش دوم محتوای سلنیوم تحت تاثیر اثرات متقابل تنش شوری و محلول‌پاشی با سلنیوم قرار گرفت تیمار بدون تنش شوری و محلول‌پاشی با ۱/۵ و ۳ میلی‌گرم در لیتر سلنیوم موجب افزایش محتوای سلنیوم گیاه شد با افزایش تنش شوری به ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار تیمارهای محلول‌پاشی تاثیری در محتوای سلنیوم گیاه نداشت (شکل ۵). در بررسی انجام شده در گوجه‌فرنگی مشخص شد که محلول‌پاشی سلنیوم موجب

افزایش محتوای سلنیوم گیاه شد (Hernandez *et al*., 2019). سلنیوم نقش مهمی در رشد گیاه تحت شرایط تنش‌های زیستی و غیرزیستی را دارد. تحت شرایط تنش شوری تیمار با سلنیوم موجب افزایش نسبت پتاسیم به سدیم در گیاه شده و با کاهش اثرات رادیکال‌های آزاد اکسیژن به بقای گیاه تحت شرایط تنش کمک می‌کند (Hassanpouraghdam *et al*., Shekari *et al*., 2017 ; 2019).



شکل ۵- اثرات متقابل تنش شوری × محلول‌پاشی (صفر، ۱/۵ و ۳ میلی‌گرم در لیتر) سلنیوم بر محتوای سلنیوم شعمدانی عطری

Figure 5- The interaction effects of salinity ×foliar spray of Se (0, 1.5 and 3 mg.L^{-1}) on Se content of *Pelargonium graveolens* (DMRT, *p≤0.05*)

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از بررسی انجام شده نشان داد که تنش شوری تاثیر منفی بر عملکرد گیاه و صفات فیزیولوژیکی گیاه داشت. محتوای عناصر گیاه تحت تاثیر اثرات مستقل تیمارهای آزمایشی مخصوصا تنش شوری قرار گرفت و با افزایش شدت تنش از محتوای عناصر گیاه کاسته شد. محتوای مالون‌دی‌آلدئید و پراکسید هیدروژن تحت تاثیر اثرات مستقل تنش شوری و تیمارهای محلول‌پاشی قرار گرفت و با افزایش شدت تنش شوری بر محتوای هر دو ترکیب درگیاه افزوده شد و تیمارهای مورد استفاده در محلول‌پاشی موجب کاهش اثرات مخرب تنش در گیاه شد. فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز تحت تاثیر اثرات مستقل تنش شوری و محلول‌پاشی قرار گرفت. تیمارهای ۱/۵ و ۳ میلی‌گرم در لیتر نانوذره آهن و سلنیوم موجب افزایش محتوی کاتالاز گیاه شد. با افزایش تنش شوری به ۱۰۰ میلی‌مولار بر فعالیت پراکسید هیدروژن افزوده شد. با افزایش تنش شوری تا ۵۰ میلی‌مولار بر درصد اسانس گیاه افزوده شد. در کل چنین می‌توان نتیجه‌گیری نمود که تنش شوری موجب کاهش صفات رشدی و فیزیولوژیک شعمدانی عطری شد. محلول‌پاشی با سلنیوم و نانوذره آهن نقش مهمی در بهبود صفات فیزیولوژیک گیاه را داشت.

منابع

1. Amaranathareddy V., Lokesh U., Venkatesh B., and Sudhakar C. 2015. Pb-stress induced oxidative stress caused alterations in antioxidant efficacy in two ground nut (*Arachis hypogaea* L.) cultivars. Agricultural Sciences 6: 1283-1297.
2. Askary M., Talebi S.M., Amini F., and Dousti Balout Bangan A. 2017. Effects of iron nanoparticles on (*Mentha piperita* L.) under salinity stress. Biologija 63(1): 65–75.
3. AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. Association of Official Agricultural Chemists, Washington, DC.
4. Berwal M.K., and Ram C. 2019. Superoxide dismutase: a stable biochemical marker for abiotic stress tolerance in higher pants. Abiotic and Biotic Stress in Plants. doi: 10.5772/intechopen.82079.
5. Charles D.J., Joly R.J., and Simon J.E. 1990. Effect of osmotic stress on the essential oil content and composition of peppermint. Phytochemistry 29: 2837–2840.
6. Doimo L., Mackay D.C., Rintoul GB., Darcy R.B., and Fletcher R. 1999. Citronellol: geraniol ratios and temperature in geranium (*Pelargonium hybrid*). The Journal of Horticultural Science and Biotechnology 74(4): https://doi.org/10.1080/14620316.1999.11511147.
7. Dudareva N., Picheresky E., and Gershenzon J. 2004. Biochemistry of plant volatiles. Plant Physiology 134: 1893-

1902.
8. Dzamic A.M., Sokovic M.D., Ristic M.S., Grujic S.M., Mileski K.S., and Marin P.D. 2014. Chemical composition, antifungal and antioxidant activity of *Pelargonium graveolens* essential oil. Journal of Applied Pharmaceutical Sciences 4(03):001–005
9. Fedina I., Georgieva K., Velitchkova M., and Grigorova I. 2006. Effect of pretreatment of barley seedlings with different salts on the level of UV-B induced and UV-B absorbing compounds. Environmental and Experimental Botany 56: 225-230.
10. Ghannadi A., Bagherinejad M.R., Abedi D., Jalali M., Absalan B., and Sadeghi N. 2012. Antibacterial activity and composition of essential oils from *Pelargonium graveolens* L. Her and *Vitex agnus-castus* L. Iranian Journal of Microbiology 4: 171-176. (In Persian with English abstract)
11. Giannopolitis C.N., and Ries S.K. 1977. Superoxide dismutase II. Purification and quantitives relationship with water soluble protein in seedling. Plant Physiology 50: 315-318.
12. Hare P.D., Cress W.A., and Van staden J. 1999. Prolin synthesis and degradation. A model system for elucidating stress-related signal transduction. Journal of Experimental Botany 50: 413-434.
13. Hassanpouraghdam M.B., Vojodi Mehrabani L., and TZortzakis N. 2019. Foliar application of Nano-Zinc and Iron effects physiological attributes of ROS marines officinal is and quietness NaCl salinity depression. Journal of soil science and plant Nutrition http//doi.org/1001007/s4/29-019-00111-1.
14. Hassanvand F., RezaeiNejad A.H., and Fanouvakis D. 2019. Morphological and physiological components mediating the silicon-induced enhancement of geranium essential oil yield under saline conditions. Industrial Crops and Products 134: 19-25.
15. Heath R.L., and Packer L. 1968. Photo peroxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry and Biophysics 125: 189-198.
16. Hernandez H.H., Gutierrez T.Q., Pliego G.C., Ortiz H.O., Fuentes A.D., Fuente M.C., Reyna V., and Maldonodo A.J. 2019. Impact of selenium and copper nanoparticles on yield, antioxidant system, and fruit quality of tomato plants. Plants 8: 355. doi:10.3390/plants8100355.
17. Khademi Astaneh R., Bolandnazar S., Zaare Nahandi F., and Oustan S. 2018. Effect of selenium application on phenylalanine ammonia-lyase (PAL) activity, phenol leakage and total phenolic content in garlic (*Allium sativum* L.) under NaCl stress. Information processing in Agriculture 5(3): 339-344.
18. Kim K.H., Tsao R., Yang R., and Cui S.W. 2006. Phenolic acid profiles and antioxidant activities of wheat bran extracts and the effect of hydrolysis conditions. Food Chemistry 95: 466–473.
19. Liu X., Feng Z., Zhang S., Zhang J., Xiao Q., and Wang Y. 2006. Preparation and testing of cementing nano-subnano composites of slower controlled release of fertilizers. Scientia Agricultura Sinica Journal 39: 1598-1604**.**
20. Luhova L., Lebeda A., Hederorva D., and Pec P. 2003. Activities of oxidase, peroxidase and catalase in seedlings of *Pisum sativum* L. under different light conditions. Plant Soil Enviornment 49(4). 151-157.
21. Marschner H. 1995. Mineral nutrient of higher plants. 2nd Edition. London: Academic Press Limited, Harcourt Brace and Company Publishers.
22. Miller G.W., Huang J., Welkie G.W., and Pushmik J.C. 1995. Function of iron in plants with special emphasis on chloroplast and photosynthetic activity. In: Abadia J (Ed.), Iron nutrition in soil and plants. Kluwer Academic publishers. Dordecht, Pp: 19-28.
23. Mozafari A.A., Ghdakchi asl A., and Chaderi N. 2018. Grape response to salinity stress and role of iron nanoparticle and potassium silicate to mitigate salt induced damage under in vitro conditions. Physiology and molecular Biology of Plants 24(1): 25-35.
24. Munns R., and Tester M. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. Annual Review of Plant Biology 59: 651–681.
25. Narnolisa L.K., Singh Jadaun J., and Singh S.P. 2019.The phytochemical composition, biological effects and biotechnological approaches to the production of high-value essential oil from Geranium. Essential Oil Research. 327-352. doi: 10.1007/978-3-030-16546-8_12.
26. Pirzad A., and Barin C. 2018. Iron and Zinc interaction on leaf nutrients and essential oil of *Pimpinella anisum* L. Iranian Journal of Plant Physiology 8(4): 2507-2515. (In Persian with English abstract)
27. Rady M., Sadak M.S., El-Bassiouny H.M.S., and Abd El-Monem A.A. 2011. Alleviation the adverse effects of salinity stress in sunflower cultivars using nicotinamide and α-tocopherol. Australian Journal of Basic and Applied Sciences 5(10): 342-355.
28. RezaeiNejad A.V., Izadi Z., Sepahvand K., Mumivaad H., and Mousavi-fard S. 2020. Changes in total phenol and some enzymatic and non-enzymatic antioxidant activates of rose-scented geranium (*Pelargonium graveolens*) in response of exogenous ascorbic-acid and iron nutrition. Journal of Ornamental Plant 10(1): 27-36.
29. Sadeghi H., Jamalpoor S., and Shirzadi M.H. 2014. Variability in essential oil of *Teucrium polium* L. of different latitudinal populations. Industrial Crops and Products 54: 130–134.
30. Said-Al Ahl H.A.H., and Mohmoud A.A. 2010. Effect of zinc and / or iron foliar application on growth and essential oil of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) under salt stress. Ozean Journal of Applied Sciences 3(1): 97-111.

31. Shekari F., Abbasi A., and Mustafavi S.H. 2017. Effect of silicon and selenium on enzymatic changes and productivity of dill in saline condition. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences 16(4): 367-374
32. Subramanyam K., Du Laing G., and Van Damme E.J.M. 2019. Sodium selenate treatment using a combination of seed priming and foliar spray alleviates salinity Stress in rice. Frontiers in Plant Science 10 doi:10.3389/fpls.2019.00116.
33. Turkan I., and Demiral T. 2009. Recent developments in understanding salinity tolerance. Environmental and Experimental Botany 67: 2-9
34. Valizadeh Kamran R., Vojodi Mehrabani L., and Pessarakli M. 2017. Effects of foliar application of $FeSO_4$ and NaCl salinity on vegetative growth, antioxidant enzymes activity, and malondialdehyde content of *Tanacetum balsamita* L. Communications in Soil Science and Plant Analysis 48(16): 1852-1859.
35. Vojodi Mehrabani L., Hassanpouraghdam M.B., and Shamsi-Khotab T. 2018. The effects of common and nano-zinc foliar application on the alleviation of salinity stress in (*Rosmarinus officinalis* L.). Acta Scientiarum PolonorumHortorum Cultus 17(6): 65-73.
36. Vojodi Mehrabani L. 2019. The effects of methanol and ethanol foliar application under salinity stress on some physiological characteristics of (*Pelargonium graveolens* L.). Journal of Plant Physiology and Breeding 9(1): 67-79.
37. Wannoussa W., Masy T., Lambert S.D., Heinrichs B., Tasseroul L., Al-Ahmad A., Weekers F., Thonar P., and Hiligsmann, S. 2015. Effect of iron nanoparticles synthesized by a Sol-Gel process on *Rhodococcus erythropolis* T902.1 for biphenyl degradation. Journal Water Resource Prot **7**: 264–77.
38. Xue T.L., Hartikainen H., and Piironen V. 2001. Antioxidative and growth-promoting effects of selenium on senescing lettuce. Plant and Soil 237: 55-61.

Journal of Horticultural Science
https:// jhs.um.ac.ir

Research Article
Vol. 36, No. 1, Spring 2022, p. 229-239

Sustainable Production of Quince by Using Fulvic Acid Bio Stimulant and Calcium

A.A. Shokouhian[1*], S. Mohammadi Shevir[2], S. Einizadeh[3]

Received: 13-04-2021
Revised: 27-04-2021
Accepted: 25-05-2021
Available Online: 20-06-2022

How to cite this article:
Shokouhian A.A. Mohammadi Shevir S., and Einizadeh S. 2022. Sustainable Production of Quince by Using Fulvic Acid Bio Stimulant and Calcium. Journal of Horticultural Science 36(1): 229-239. (In Persian with English abstract)
DOI: 10.22067/JHS.2021.69426.1037

Background and Objectives

Fulvic acid has a relatively low molecular weight and contains a large number of oxygen and carbon-rich functional groups. Many of the beneficial effects of fulvic acid spray include stimulating plant metabolism, increasing the activity of transaminase and invertase enzymes, increasing bioavailability and nutrient uptake, as well as increasing crop growth and yield. Fulvic acid spraying solution helps to transfer minerals to metabolic sites within plant cells. Fulvic acid at certain stages of plant growth can be used as a major method to maximize plant production capacity. Due to the fact that calcium transfer is difficult, although the soil is rich in this element, so its foliar application is recommended. In addition, calcium deficiency leads to a decrease in root growth and leaf loss, but also leads to the production of poor quality fruits. Therefore, this study was carried out with the aim of investigating the use of fulvic acid and calcium as a spraying solution on growth and yield of Quince 'Haj Agha Kishi'.

Materials and Methods

In order to investigate the effects of fulvic acid concentration and chelated calcium on quality and quantity of fruit indices of Quince 'Haj Agha Kishi' an experiment was conducted during 2017-2018 in kosar city, Ardabil province. The experiment was performed as a factorial in based on the randomized complete block design with four levels of fulvic acid application with concentrations of 0, 1, 2 and 3 per thousand and three levels of application of chelated calcium with concentrations of 0, 1.5 and 3 per thousand in three replications. The treatments were applied to six-year-old seedlings. The treatments were applied on the trees as a spray solution and applied three times: after fruit set, one and two months after fruit set. In this study, leaf chlorophyll content index was measured by Arnon method. The leaf area of the plant was measured with a level gauge, model AM300, In this study 10 leaves were randomly selected from each tree branch, the average leaf area was multiplied by the number of main and secondary branches, and the leaf area of each treatment was recorded as average. In order to determine the length, diameter and average weight of fruit, ten fruits were randomly harvested from treated trees, then the diameter and length of the fruits were measured with a caliper with an accuracy of 0.01 mm. Also, the weight of the fruits was determined with a scale of model GF800, made in Japan with an accuracy of 0.01 grams. Yield was calculated by measuring the total weight of the crop in each tree. Statistical analysis of data was performed using SAS 9.2 statistical software. Means were compared based on LSD lest at 1 or 5% and charts were drawn using EXCEL 2013 software.

Results

The results of data analysis of variance showed that the effects of chelated calcium and fulvic acid on leaf area, length, diameter, wet weight and fruit yield were significant ($P<0.01$). Based on the results, fulvic acid had a significant ($P<0.05$) effect on chlorophyll b and total chlorophyll content of leaf. The interaction of calcium ×fulvic acid treatments had a significant ($P<0.01$) effect on leaf area and fruit length. The highest total

1, 2 and 3- Associate Professor, M.Sc. Graduated and Ph.D. Student, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture & Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: shokouhiana@uma.ac.ir)

chlorophyll content of 1.20 $mg.g^{-1}$ was obtained by using 3 per thousand concentration of fulvic acid and the lowest rate was 0.79 $mg.g^{-1}$ in the control. The highest (5481.69 mm^2) leaf area was obtained with the simultaneous use of 3 per thousand concentration of chelated calcium and 3 per thousand concentration of fulvic acid, which was significantly different from other levels. The lowest leaf area was also observed in control. Comparison of the means showed that the treatments of 3 per thousand concentration chelated calcium and 3 per thousand concentration of fulvic acid had the highest fruit yield with 167.63 and 135.30 kg, respectively. The lowest yield was recorded for control trees.

Conclusion

Increasing yield and quality is the most important goal in agricultural production. Due to the fact that biostimulants do not have adverse effects on soil and water**.** In order to maintain sustainable production should be used in the production program. Folic acid, as a biostimulant, improves plant metabolism and facilitates the absorption of elements. According to the findings of this study, application of fulvic acid and chelated calcium at 3 per thousand concentrations is recommended for Quince ‘Haj Agha Kishi’ to improve leaf efficiency and fruit yield.

Keywords: Biofertilizer, Chlorophyl, Humic substances, Yield

نشریه علوم باغبانی
https:// jhs.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۶، شماره ۱، بهار ۱۴۰۱، ص ۲۳۹-۲۲۹

تولید پایدار محصول بِه با کاربرد محرک‌زیستی فولویک اسید و کلسیم

علی اکبر شکوهیان[۱*]- سمیه محمدی شویر[۲]- شهریار عینی زاده[۳]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۱/۲۴
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۳/۰۴

چکیده

فولویک اسید می‌تواند به عنوان یک روش عمده برای به حداکثر رساندن ظرفیت تولیدی گیاهان مورد استفاده قرار گیرد. این پژوهش با هدف بررسی کاربرد محرک زیستی فولویک اسید و کلات کلسیم به‌صورت محلول پاشی بر رشد و عملکرد بِهْ رقم 'حاج آقا کیشی' انجام شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار سطح کاربرد فولویک اسید در غلظت‌های صفر، ۱، ۲ و ۳ در هزار و سه سطح کاربرد کلات کلسیم در غلظت‌های صفر، ۱/۵ و ۳ در هزار در چهار تکرار به اجرا درآمد. نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات کلات کلسیم و فولویک اسید بر سطح برگ؛ طول، قطر، وزن تر و عملکرد میوه در سطح احتمال آماری یک درصد معنی‌دار بود. بر اساس نتایج، فولویک اسید بر میزان کلروفیل b و کل در سطح احتمال آماری پنج درصد اثر معنی‌داری داشت. شایان ذکر است که اثرات متقابل تیمارهای کلات کلسیم × فولویک اسید بر میزان سطح برگ و طول میوه در سطح احتمال آماری یک درصد معنی‌دار بود. بیشترین میزان کلروفیل کل برگ با مقدار ۱/۲۰ میلی‌گرم در گرم وزن‌تر با کاربرد فولیک‌اسید ۳ در هزارو کم‌ترین میزان نیز با مقدار ۰/۷۹ میلی‌گرم در گرم وزن‌تر در برگ گیاهان شاهد بدست آمد. بیش‌ترین سطح برگ (۵۴۸۱/۶۹ میلی‌متر مربع) با کاربرد توام تیمارهای کلات‌کلسیم ۳ در هزار و اسیدفولیک ۳ در هزار بدست آمد که اختلاف معنی‌داری با سایر سطوح داشت. کم‌ترین میزان سطح برگ نیز در تیمارهای شاهد مشاهده شد. نتایج مقایسه میانگین‌ها بیانگر آن بود که تیمارهای ۳ در هزار کلات کلسیم و ۳ در هزار فولیک‌اسید بیشترین عملکرد میوه را به‌ترتیب با ۱۶۷/۶۳ و ۱۳۵/۳۰ کیلوگرم در هر درخت حاصل نمودند. کم‌ترین عملکرد نیز مربوط به درختان شاهد بود. با توجه به یافته‌های این پژوهش تیمارهای فولویک اسید و کلات کلسیم در غلظت ۳ در هزار برای بهبود کارایی برگ و عملکرد میوه بِهْ رقم 'حاج آقا کیشی' نتیجه بهتری را نشان داد.

واژه‌های کلیدی: عملکرد، کلروفیل، کود زیستی، مواد هیومیکی

مقدمه

حفظ تولید غذا برای جمعیت در حال رشد جهان بدون به خطر انداختن منابع طبیعی برای نسل های آینده حتی در مقایسه با انقلاب سبز یکی از بزرگترین چالش های علوم کشاورزی در قرن بیستم است که یکی از راه حل‌های بالقوه برای کمک به این موضوع استفاده از محرک‌های زیستی گیاهی بر پایه مواد هیومیک می‌باشد (Canellas *et al.*, 2015). بِهْ (*Cydonia oblonga*) متعلق به زیرخانواده Maloideae از خانواده Rosaceae می باشد و از میوه های مهم تجاری است (Wojdyło *et al.*, 2013). میوه‌ی بِهْ را به‌طور عمده آب و کربوهیدرات‌ها تشکیل می‌دهند و منبع غنی از فیبر است. سایر ترکیبات با مقادیر کم شامل پروتئین‌ها (۰/۴درصد)، چربی (۰/۶درصد)، فیبر (۱/۹درصد)، پتاسیم، ویتامین C و ویتامین A می‌باشد (Moreira *et al.*, 2008). همچنین منبع مهمی از اسیدهای آلی و ترکیبات فنولیک است (Hamauzu *et al.*, 2006). از مشکلات عمده تولید این میوه می توان به عملکرد و کیفیت پایین آن اشاره کرد که باعث محدودیت عرضه و صادرات آن شده است. جهت افزایش عمر پس‌ازبرداشت میوه‌ها و سبزی‌ها، باغدارها از ترکیب‌های شیمیایی استفاده می‌کنند که با استفاده بی‌رویه این کودها باعث سفت شدن و تغییر کیفیت میوه، و شور شدن و آلودگی خاک می گردد. یکی از راه های جلوگیری از ایجاد این مشکلات استفاده از کودهای آلی و

۱، ۲ و ۳- به‌ترتیب دانشیار، دانش‌آموخته کارشناسی ارشد و دانشجوی دکتری فیزیولوژی پس از برداشت، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email:shokouhiana@uma.ac.ir)
DOI: 10.22067/JHS.2021.69426.1037

مشتقات آن‌ها است (Ho *et al.*, 2008).

ماده هیومیک را می‌توان با توجه به حلالیت آن در pH مختلف به هیومین، هیومیک اسید و فولویک اسید تقسیم کرد (Suh *et al.*, 2014). هیومیک و فولویک اسید به به‌عنوان محرک های زیستی گیاهی محسوب و اساسا از مواد آلی گیاهی حاوی لیگنین تولید می‌شوند (Malan, 2015). در بین این مواد، فولویک اسید وزن مولکولی نسبتاً کمی دارد و حاوی مقدار زیادی از گروه‌های کاربردی غنی از اکسیژن و کربن ناچیز است. بسیاری از اثرات مفید کاربرد برگی اسید فولویک، شامل تحریک متابولیسم گیاه، افزایش فعالیت آنزیم‌های ترانس آمیناز و اینورتاز، افزایش فراهمی زیستی و جذب مواد مغذی همچنین افزایش رشد و عملکرد محصول می‌باشد (Jifon and Leste, 2009). فولویک اسید به دلیل وجود اتم‌های اکسیژن الکترونگاتیوی‌تر نسبت به سایر مولکول‌های هیومیکی، بیشترین تأثیر را در واکنش‌های شیمیایی دارد و این باعث افزایش نفوذپذیری غشاها می‌شود (Priya *et al.*, 2014). پس از کاربرد برگی، فولویک اسید مستقیماً مواد معدنی را به مکان های متابولیک داخل سلول‌های گیاهی منتقل می‌کند. بدنبال آن محلول‌پاشی فولویک اسید در مراحل خاصی از رشد گیاهان، حاوی مواد معدنی کلاته می‌تواند به عنوان یک روش عمده برای به حداکثر رساندن ظرفیت تولیدی گیاهان مورد استفاده قرار گیرد (Chen *et al.*, 2004).

کلسیم به‌خصوص در سیب و گلابی عمر نگهداری میوه‌ها را افزایش می‌دهد. باوجود اینکه خاک‌های زراعی کشور ما آهکی بوده و کلسیم یکی از فراوان‌ترین عناصر پوسته را تشکیل می‌دهد، گیاهان باز هم دچار کمبود کلسیم می‌شوند؛ زیرا حرکت کلسیم در درون گیاهان بسیار کند بوده و به‌دلیل محصور شدن آن در واکوئل‌ها حرکت آن در درون گیاه فقط از طریق آوند چوبی امکان‌پذیر هست. کلسیم جذب‌شده به این طریق در برگ‌ها تجمع یافته و به هنگام تجزیه برگی نیز، غلظت کلسیم در برگ ها در حد کفایت می‌باشد ولی در تابستان که هوا گرم‌تر می‌شود و میوه نیز درشت‌تر و نیاز بیشتری به کلسیم دارد، تبخیر از سطح برگ به‌مراتب بیشتر از سطح میوه‌ها بوده و به همین دلیل آن مقدار کمی از کلسیم که توسط آوندهای چوبی به میوه می‌رسید نیز کاهش‌یافته و با وجود بالا بودن غلظت کلسیم در برگ‌ها میوه دچار کمبود کلسیم می‌شود؛ بنابراین، مشکل اصلی کمبود کلسیم انتقال آن در داخل گیاه هست، در این راستا، تغذیه برگی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. با تغذیه برگی می‌توان عناصر غذایی را مستقیماً در اختیار شاخه و برگ یا میوه قرارداد (Neilsen *et al.*, 2005; Khreba *et al.*, 2014). کمبود کلسیم منجر به کاهش در رشد ریشه، کلروز و نکروزه شدن برگ و در نهایت موجب تولید میوه های کوچک، طعم ناخوشایند، بافت نرم و کیفیت پایین می‌شود (Johnson, 2008). کلسیم یکی از عناصر اصلی سلول ها است که باعث حفظ ساختار دیواره سلولی و تثبیت غشای سلولی شده و در تقسیم و طویل شدن سلول نیز دخیل است (Hirschi, 2004).

هدف از انجام این پژوهش بررسی کاربرد محرک زیستی فولویک اسید و کلات کلسیم به‌صورت محلول‌پاشی بر رشد و عملکرد بِهْ رقم حاج آقا کیشی در شهرستان کوثر بود که یکی از قطب های تولید این میوه در کشور است.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در استان اردبیل شهرستان کوثر در سال زراعی ۱۳۹۷-۱۳۹۶ انجام شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار سطح کاربرد فولویک اسید با غلظت‌های صفر، ۱، ۲ و ۳ در هزار لیتر آب و سه سطح کاربرد کلات کلسیم با غلظت‌های صفر، ۱/۵ و ۳ در هزار لیتر آب در سه تکرار بر روی درختان ۶ ساله بِهْ رقم 'حاجی‌آقا کیشی' در مجموع با ۴۸ واحد آزمایشی به اجرا درآمد. فولویک اسید و کلات کلسیم بصورت مایع با نام تجاری آگروفر از شرکت سبزایساتیس یزد خریداری شد. برای اعمال تیمارها میزان محلول‌های فولیک اسید و کلات کلسیم لازم برای هر واحد آزمایشی محاسبه و اندازه‌گیری شد. تیمارها به‌صورت برگی (محلول‌پاشی) و در سه نوبت (بعد از تشکیل میوه، یک ماه بعد از محلول‌پاشی اول و یک ماه بعد از محلول‌پاشی دوم) با فاصله زمانی یک ماه از یکدیگر اعمال شد.

در این بررسی شاخص محتوای کلروفیل برگ با استفاده از روش آرنون اندازه‌گیری گردید (Arnon, 1949) به‌طوری‌که مقدار نیم گرم از ماده‌تر گیاهی را در هاون چینی ریخته، سپس با افزودن نیتروژن مایع آن را خردکرده سپس ۲۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد به نمونه‌ها اضافه و در دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد. عصاره جداشده فوقانی حاصل از سانتریفیوژ به بالن شیشه‌ای منتقل شد. مقداری از نمونه داخل بالن را در کووت اسپکتروفتومتر ریخته و سپس به‌طور جداگانه در طول موج‌های ۶۶۳ نانومتر برای کلروفیل a و ۶۴۵ نانومتر برای کلروفیل b توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل JENWAY 6705/VIS ساخت ژاپن، مقدار جذب قرائت گردید. در نهایت با استفاده از فرمول‌های زیر میزان کلروفیل a، b و کل برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر نمونه به دست آمد (Arnon, 1949).

$$Chl_a\ (\mu g/ml) = \frac{(19.3\times A_{663} - 8.6\times A_{645})V}{100W}$$

$$Chl_b\ (\mu g/ml) = \frac{(19.3\times A_{645} - 3.6\times A_{663})V}{100W}$$

$$Chl_{(total)} = Chl_a + Chl_b$$

V: حجم نمونه استخراج‌شده W: وزن‌تر نمونه

سطح برگ گیاه به‌وسیله دستگاه سطح سنج مدل AM300 اندازه‌گیری شد برای این منظور ۱۰ عدد برگ به‌صورت تصادفی از هر

شاخه در چهار جهت و سه بخش بالا، وسط و پایین درخت تیمار شده انتخاب شد، سپس میانگین تعداد برگ در هر شاخه شمارش گردید و میانگین تعداد برگ هر شاخه در تعداد شاخ‌های اصلی و فرعی ضرب شده و سطح برگ‌های هر تیمار به‌صورت میانگین بیان‌شده است (Bakhshandeh *et al.*, 2012). به‌منظور تعیین طول و قطر و میانگین وزن میوه، تعداد ده میوه به‌صورت تصادفی از درختان تیمار شده برداشت و قطر و طول میوه‌ها به‌وسیله کولیس مدرج با دقت ۰/۰۱ میلی‌متر اندازه‌گیری گردید، همچنین میانگین وزن میوه‌ها به‌وسیله ترازوی مدل GF800 ساخت کشور ژاپن با دقت ۰/۰۱ گرم مشخص شد (Tabatabaei, 2013). در نهایت عملکرد با اندازه‌گیری وزن کل محصول در هر درختان تحت تیمار محاسبه گردید.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS 9.2 و مقایسه میانگین بوسیله آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد انجام شد و نمودارها نیز با استفاده از نرم‌افزار EXCEL 2013 رسم گردیدند.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات کلات کلسیم و فولویک اسید بر سطح برگ؛ طول، قطر، وزن تر و عملکرد میوه در سطح احتمال آماری یک درصد معنی‌دار بود. بر اساس نتایج فولویک اسید بر میزان کلروفیل b و کل در سطح احتمال آماری پنج درصد اثر معنی‌داری داشت. اثرات متقابل تیمارهای کلات کلسیم و فولویک اسید بر میزان سطح برگ و طول میوه در سطح احتمال آماری یک درصد اثر معنی‌داری داشتند (جدول ۱).

نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها نشان می‌دهد سطوح اسیدفولیک موجب افزایش میزان کلرفیل b نسبت به شاهد شده است به‌طوری که که بیش‌ترین میزان کلرفیل b (۰/۴۷ میلی‌گرم در گرم وزن تازه برگ) با کاربرد ۳ در هزار فولیک اسید بدست آمد هرچند که سایر سطوح فولویک اسید با شاهد از نظر میزان کلروفیل b تفاوت معنی‌داری نداشتند ولی از میزان کلروفیل بالاتری برخوردار بودند (شکل ۱).

در این پژوهش فولویک اسید اثرات مثبتی بر میزان کلروفیل کل برگ‌ها داشت. با افزایش سطوح اسیدفولویک میزان کلرفیل کل نیز نسبت به شاهد افزایش یافته است. طبق نتایج بدست آمده بیش‌ترین میزان کلروفیل کل برگ با مقدار ۱/۲۰ میلی‌گرم در گرم وزن‌تر با کاربرد سطح ۳ در هزار فولیک‌اسید و کم‌ترین میزان نیز با مقدار ۰/۷۹ میلی‌گرم در گرم وزن‌تر در برگ گیاهان شاهد بدست آمد (شکل ۲).

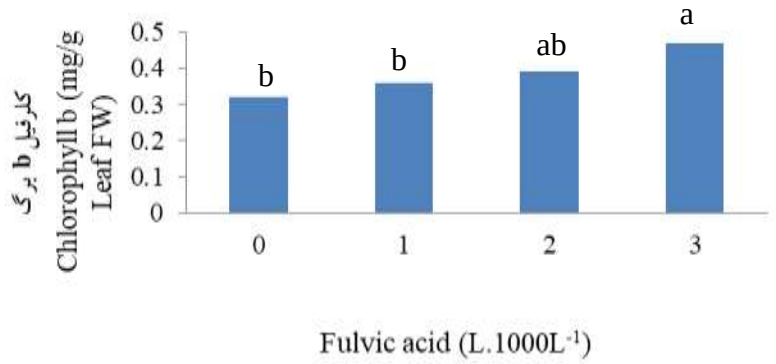
جدول ۱- تجزیه واریانس اثرات کلات کلسیم و فولویک اسید بر رشد و عملکرد بِهٔ رقم 'حاج آقا کیشی'

Table 1- ANOVA results for the effects of chelated calcium and fulvic acid application on growth and yield of Quince 'Haji Agha Kishi'

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی DF	میانگین مربعات Mean squares							
		کلروفیل a Chlorophyll. a	کلروفیل b Chlorophyll. b	کلروفیل کل Total Chlorophyll..	سطح برگ Leaf area	طول میوه Fruit length	قطر میوه Fruit diameter	وزن تر میوه Fresh fruit weight	عملکرد Yield
بلوک Block	۲	0.16*	0.01ns	*0.24	45346. 2ns	*0.34	0.03ns	474.18ns	51.86ns
کلات کلسیم Chelated calcium (CCa)	۲	0.0005ns	0.0ns	0.01ns	323748.27**	17.01**	12.16**	115862.91**	2730.77**
فولویک اسید Fulvic acid (FvA)	3	0.07ns	*0.03	*0.24	206466.13**	2.22**	0.34**	3890.88**	419**
CCa×FvA	6	0.01ns	0.01ns	0.06ns	53153**	0.55**	0.05ns	293.02ns	30.58ns
خطای آزمایشی Error	22	0.03	0.01	0.05	9642	0.08	0.02	301.19	16.71
ضریب تغییرات C.V (%)	-	30.35	26.11	24.41	2.56	3.23	1.69	5.07	2.66

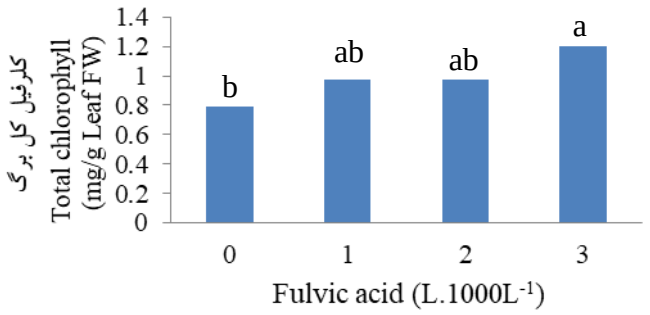
ns: عدم معنی‌داری، *، **: به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

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



شکل ۱- اثر کاربرد سطوح مختلف فولویک اسید بر میزان کلروفیل b برگ درخت بِهْ رقم 'حاج آقا کیشی'

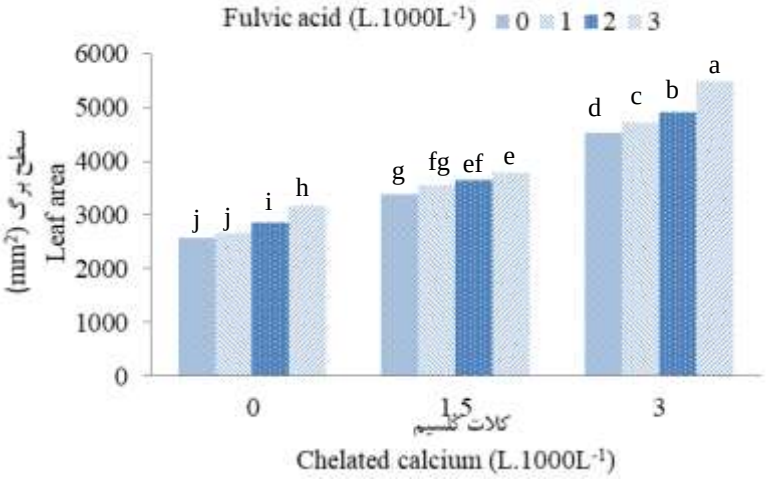
Figure 1- The effect of fulvic acid on chlorophyll b (mg/g Leaf FW) content of Quince 'Haji Agha Kishi' leaf.
(LSD, $p \leq 0.05$)



شکل ۲- اثر کاربرد سطوح مختلف فولویک اسید بر میزان کلروفیل کل برگ درخت بِهْ رقم 'حاج آقا کیشی'

Figure 2- The effect of fulvic acid on total chlorophyll content of Quince 'Haji Agha Kishi' leaf
(LSD, $p \leq 0.05$)

بر اساس نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها، سطح برگ درختان با افزایش سطوح تیمارهای اعمال شده، افزایش یافته است. بیش‌ترین (۵۴۸۱/۶۹ میلی‌متر مربع) سطح برگ با کاربرد توام تیمارهای ۳ در هزار کلات‌کلسیم و ۳ در هزار اسیدفولیک بدست آمد که اختلاف معنی‌داری با سایر سطوح داشت. کم‌ترین میزان سطح برگ (۲۵۵۲/۷۲) نیز در تیمارهای شاهد مشاهده شد (شکل ۳).

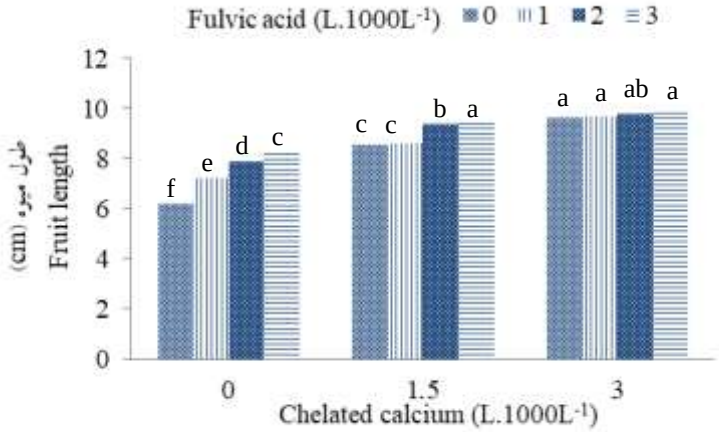


شکل ۳- اثر متقابل کاربرد فولویک اسید × کلات کلسیم بر سطح برگ درخت بِهْ رقم 'حاج آقا کیشی'

Figure 3– The interaction effect of fulvic acid ×chelated calcium on leaf area (mm^2) of Quince 'Haji Agha Kishi'.
(LSD, $p \leq 0.05$)

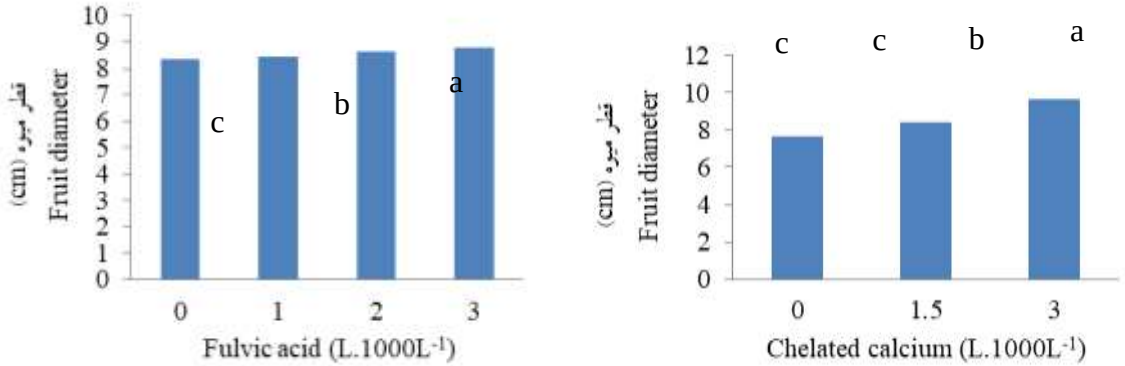
بررسی مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمارهای کلات‌کلسیم و اسید فولیک نشان داد که یک روند مثبت با افزایش غلظت تیمارها در میزان طول میوه وجود دارد. بیش‌ترین میزان طول میوه مربوط به تیمار۳ در هزار کلات کلسیم با میزان ۹/۹۱ سانتی متر و تیمار۳ در هزار اسیدفولیک می باشد. کم ترین میزان طول میوه (۶/۲۲ سانتی‌متر) مربوط به شاهد بود (شکل ۴).

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها حاکی از این بود که افزایش غلظت کلات کلسیم و اسیدفولیک منجر به افزایش در قطر میوه بِهْ شد. به‌طوری که بیشترین قطر میوه در بین سطوح کلات‌کلسیم با میزان ۹/۳۱ سانتی متر مربوط به تیمار ۳ در هزار و در بین سطوح اسید فولیک با میزان ۷/۹۸ سانتی متر مربوط به تیمار ۳ در هزار بود. کمترین میزان قطر میوه نیز در میوه ی درختان شاهد مشاهده گردید (شکل ۵).



شکل ۴- اثر متقابل کاربرد سطوح مختلف فولویک اسید ×کلات کلسیم بر طول میوه‌ی بِهْ رقم 'حاج آقا کیشی'

Figure 4– The interaction effect of fulvic acid ×chelated calcium on fruit length (cm) of Quince 'Haji Agha Kishi' (LSD, $p \leq 0.05$)

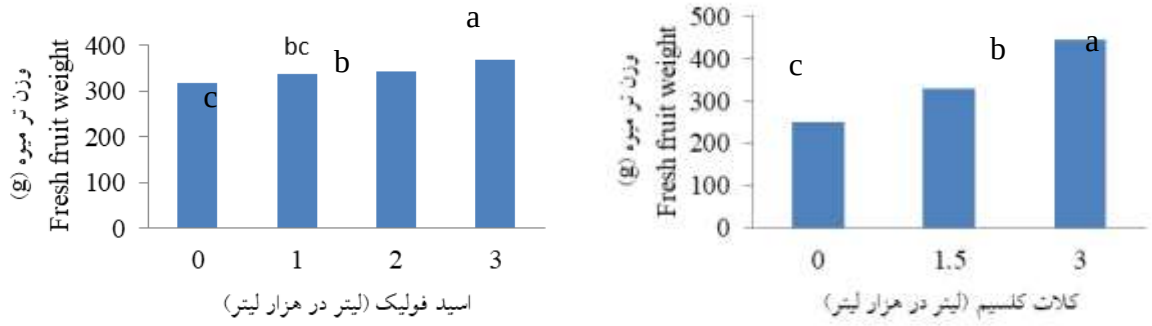


B A

شکل ۵- اثرات کاربرد سطوح مختلف فولویک اسید (A) و کلات کلسیم (B) بر قطر میوه‌ی بِهْ رقم 'حاج آقا کیشی'

Figure 5– The effects of fulvic acid (A) and chelated calcium (B) on fruit diameter (cm) of Quince 'Haji Agha Kishi' (LSD, $p \leq 0.05$)

در بین سطوح اسید فولیک بیشترین وزن میوه (۳۶۹/۱۱ گرم) در سطح ۳ در هزار مشاهده شد و کمترین وزن تر میوه (۳۱۸/۷۳ گرم) در میوه‌های شاهد بود (شکل ۶). در بین سطوح کلات‌کلسیم نیز بیش ترین میزان وزن تر میوه (۴۴۵/۹۲ گرم) مربوط به سطح ۳ در هزار بود و کم‌ترین میزان آن (۲۵۰/۴۶ گرم) در میوه‌های شاهد مشاهده شد (شکل ۶).

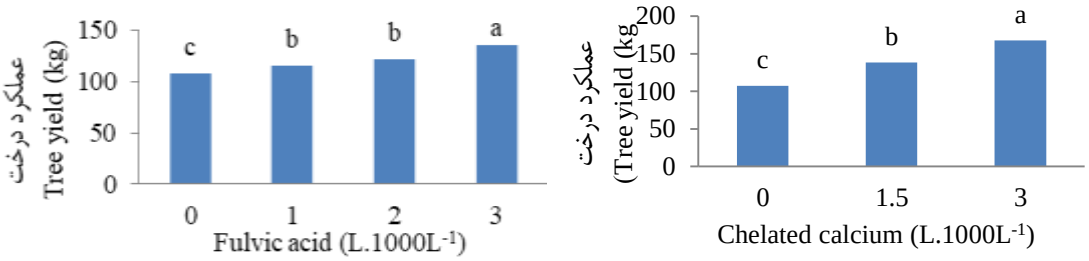


B A

شکل ۶- اثرات کاربرد سطوح مختلف فولویک اسید (A) و کلات کلسیم (B) بر وزن تر میوه‌ی بِهْ رقم 'حاج آقا کیشی'

Figure 6– The effects of fulvic acid (A) and chelated calcium (B) on fresh fruit weight (g) of Quince 'Haji Agha Kishi'. (LSD, *p≤0.05*)

نتایج مقایسه میانگین‌ها بیانگر آن بود که تیمارهای ۳ در هزار کلات کلسیم و فولویک اسید بیشترین عملکرد میوه را به‌ترتیب با ۱۶۷/۶۳ و ۱۳۵/۳۰ کیلوگرم در درخت را حاصل نمودند. کم ترین عملکرد نیز مربوط به درختان شاهد بود (شکل ۷).



B A

شکل ۷- اثرات کاربرد سطوح مختلف فولویک اسید (A) و کلات کلسیم (B) بر عملکرد درخت بِهْ رقم 'حاج آقا کیشی'

Figure 7- Th effects of fulvic acid (A) and chelated calcium (B) on tree yield (kg) of Quince 'Haji Agha Kishi'. (LSD, *p≤0.05*)

بحث

کاربرد فولویک اسید با افزایش فتوسنتز رشد گیاه را بهبود می‌بخشد (Gulser *et al*, 2010). بیشترین جذب فولویک اسید توسط برگ‌ها انجام می‌شود (Malan, 2015) و استفاده از مواد هیومیکی سبب تحریک تولید رنگریزه‌های کلروفیلی می‌شود (Hatami *et al*., 2020; Aiken *et al*., 1985). انجم و همکاران (Anjum *et al*., 2011) گزارش کردند که فولویک اسید محتوای کلروفیل و آب برگ‌ها را افزایش می‌دهد که همسو با نتایج این پژوهش است (Anjum *et al*., 2011). بنظر می‌رسد افزایش سطح برگ با کاربرد فولویک اسید نسبت به شاهد می‌تواند کارایی برگ را در فتوسنتز و بهبود رشد، افزایش دهد. فولویک اسید ممکن است که از طریق افزایش جذب نیتروژن و منیزیم (ترکیبات ساختاری کلروفیل)، پیری را بتاخیر انداخته و موجب تجمع کلروفیل شود که در نهایت منجر به افزایش نرخ فتوسنتز می‌شود (Abdel-Baky *et al*., 2019). همچنین در فلفل دلمه‌ای نیز گزارش شده است که هیومیک اسید موجب افزایش سطح نیتروژن، آهن و منیزیم در شرایط تنش شوری ملایم شده بود (Çimrin *et al*., 2010). محرک‌های زیستی، متابولیسم اولیه گیاهان را بهبود می‌بخشند و سطوح کربوهیدرات، بیوسنتز پروتئین، آمینو اسیدهای آزاد، رنگریزه‌ها و آنزیم‌های مختلف را افزایش می‌دهند (Hatami *et al*., 2020; Calvo *et al*., 2014). اسیدفولویک موجب افزایش در عملکرد میوه بِهْ شد که با نتایج بسیاری از تحقیقات همسو می باشد. محلول‌پاشی مواد هیومیکی باعث افزایش معنی دار عملکرد کل در فلفل شده است (Karakurt *et al*., 2009). همچنین کاربرد مواد هیومیکی (۱ گرم در لیتر)

به‌صورت محلول‌پاشی باعث افزایش عملکرد لوبیا شده است (Zaky *et al.*, 2006). عملکرد گوجه فرنگی نیز با محلول‌پاشی فولویک اسید بهبود یافته است (Suh *et al.*, 2014). بنظر می‌رسد فولویک اسید علاوه بر تنظیم جذب عناصر (Piccolo *et al.*, 2003; Piccolo and Mbagw, 1999) و تراوایی سلول (Vaughan and Ord, 1981) مکانیسم‌های کلیدی متابولیک گیاه را نیز تنظیم می‌کند (Dobbss *et al.*, 2007). بیشترین جذب فولویک اسید که یک کود زیستی بشمار می‌رود توسط برگ انجام می‌گیرد و یک کلات کننده مواد معدنی و جاذب آب است که با جذب حداکثری از طریق برگ، بهره‌وری را تحریک می‌کند (Malan, 2015). برخی از مطالعات گزارشات مثبتی مبنی بر اثر کاربرد مواد هیومیکی بر رشد، کیفیت و حجم میوه گلابی، زیتون و لیمو را ارائه کرده‌اند (Calvo *et al.*, 2014) که همسو با نتایج این پژوهش می‌باشد. کاربرد اسید فولویک به تنهایی یا در ترکیب با کیتوزان و سالیسیلیک اسید موجب بهبود طول شاخه، سطح برگ، کلروفیل کل برگ و عملکرد انگور بیدانه تامپسون شده است (El-kenawy, 2017). مواد هیومیک به طور مستقیم، از طریق افزایش جذب آهن و سنتز کلروفیل، افزایش فعالیت آنزیم رابیسکو و افزایش فتوسنتز، افزایش جذب عناصر مفید و کاهش جذب عناصر سمی، با خاصیت کالته کنندگی، رشد و تولید گیاه را افزایش داده و به‌طور غیرمستقیم، با تغییر ساختار فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی خاک، روی رشد گیاهان سودمند است (Parandian and Samavat, 2012).

اثرات متقابل و نیز اثر ساده کاربرد کلات کلسیم و فولویک اسید بر اساس نتایج این پژوهش موجب افزایش قابل توجه در سطح برگ درخت به رقم حاج آقا کیشی شد. کلسیم به‌تنهایی با فعال کردن متابولیسم آنزیم‌ها، فتوسنتز و کربوهیدرات‌ها سطح برگ را بهبود می‌بخشد (Hirschi, 2004). این عنصر یک ترکیب اساسی در دیواره سلول گیاهی است و در تقسیم و بزرگ شدن سلول نقش بسزائی دارد (Ho *et al.*, 2008). محلول‌پاشی کلسیم به‌تنهایی در افزایش رشد و تولید میوه گوجه‌فرنگی نیز موثر بوده است (Gulser *et al.*, 2010). بر اساس گزارش شاهید و همکاران (Shahid *et al.*, 2020) کاربرد محلول‌پاشی کلسیم اثرات معنی دار و مثبتی بر میزان حجم و عملکرد میوه هلو داشته است در واقع کلسیم موجب بهبود جذب آمونیوم شده که بهبود فتوسنتز و جذب دی‌اکسید کربن را به‌همراه خواهد داشت که در نهایت وزن، حجم و عملکرد میوه را افزایش می‌دهد (Piccolo et al., 2003). فولویک اسید با افزایش ساخت مجتمع‌های فلزی و عوامل کلاته کننده حلالیت مواد معدنی را افزایش می‌دهد (Canellas *et al.*, 2015)، همچنین در افزایش در دسترس بودن عناصر غذایی با نگه داشتن آنها روی سطوح معدنی، و تبدیل آنها به فرم‌هایی که در دسترس گیاهان است، موثر است (Karakurt *et al.*, 2009). اثرات کاربرد تلفیقی کودهای زیستی و کودهای شیمیایی بر عملکرد و اجزای عملکرد ذرت دانه‌ای،موجب افزایش عملکرد دانه در تیمار ۵۰ ٪کود شیمیایی+ کود زیستی شده است (Eidizadeh *et al.*, 2011).

نتیجه‌گیری

افزایش عملکرد و کیفیت مهمترین هدف در تولید محصولات کشاورزی است. با توجه به اینکه محرک‌های زیستی اثرات نامطلوبی بر خاک و آب ندارند، به منظور حفظ تولید پایدار باید در برنامه تولید مورد استفاده قرار گیرند. فولویک اسید به‌عنوان یک محرک زیستی متابولیسم گیاه را بهبود بخشیده و جذب عناصر را تسهیل می‌کند. از نتایج این پژوهش می توان چنین نتیجه گرفت که محلول پاشی کلات کلسیم و محرک زیستی فولویک اسید، با کابرد غلظت۳ در هزار توانسته است شاخص‌های سطح برگ، کلرفیل برگ، عملکرد میوه و همچنین شاخص های کمی میوه را نسبت به شاهد، بهبود بخشیده است. کاربرد فولویک اسید بصورت محلول‌پاشی اثر مثبتی بر انتقال مواد معدنی و کلاته کردن دارد.

منابع

1. Abdel-Baky Y.R., Abouziena H.F., Amin A.A., Rashad El-Sh M., and Abd El-Sttar A.M. 2019. Improve quality and productivity of some faba bean cultivars with foliar application of fulvic acid, Bulletin of the National Research Centre 43: 2. https://doi.org/10.1186/s42269-018-0040-3.
2. Aiken G.R., McKnight D.M., Wershaw R.L., and Mccarthy P. 1985. Humic Substances in Soil, Sediment, and Water: Geochemistry, Isolation and Characterization. John Wiley & Sons. New York. https://doi.org/10.1002/gj.3350210213.
3. Anjum S.A., Wang L., Farooq M., Xue L., and Ali S. 2011. Fulvic acid application improves the maize performance under well-watered and drought conditions, Journal of Agronomy and Crop Science 197(6): 409-417. https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.2011.00483.x.
4. Arnon D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts, Polyphenol oxidase in *Beta Vulgaris*, Plant Physiology 24(1): 1-15. https://doi.org/10.1104/pp.24.1.1.
5. Bakhshandeh E., Soltani A., and Ghadiryan R. 2012. Leaf area index measurement by AccuPAR instrument in wheat, Journal of Plant Production 18(4): 97-102. (In Persian)

6. Calvo P., Nelson L., and Kloepper J.W. 2014. Agricultural uses of plant biostimulants, Plant Soil 383: 3–41. https://doi.org/10.1007/s11104-014-2131-8.
7. Canellas L.P., Olivares F.L., Aguiar N.O., Jones D.L., Nebbioso A., Mazzei P., and Piccolo A. 2015. Humic and fulvic acids as biostimulants in horticulture, Scientia Horticulturae 196: 15-27. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.013.
8. Chen Y., De Nobili M., and Aviad T. 2004. Stimulatory effects of humic substances on plant growth. In: F. MAGDOFF, R. R. WEIL (eds.): Soil Organic Matter in Sustainable Agriculture. 103-129 CRC Press. New York. USA.
9. Çimrin K.M., Türkmen Ö., Turan M., and Tuncer B. 2010. Phosphorus and humic acid application alleviate salinity stress of pepper seedling, African Journal of. Biotechnology 9(36): 5845–5851.
10. Dobbss L.B., Medici L.O., Peres L.E.P., Pino-Nunes L.E., Rumjanek V.M., Façanha A.R., and Canellas L.P. 2007. Changes in root development of Arabidopsis promoted by organic matter from oxisols, Annals of Applied Biology 151: 199–211. https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2007.00166.x.
11. Eidizadeh Kh., Mahdavi Damghani A.M., Ebrahimpoor F., and Sabahi H. 2011. Effects of integrated application of biological and chemical fertilizer and application method of biofertilizer on yield and yield components of maize, European Journal of Clinical Pharmacology 4(3): 21-35.
12. El-kenawy M. 2017. Effect of Chitosan, Salicylic Acid and Fulvic Acid on Vegetative Growth, Yield and Fruit Quality of Thompson Seedless Grapevines, Egyptian Journal of Horticulture 44(1): 45-59. https://doi.org/10.21608/EJOH.2017.1104.1007.
13. Gulser F., Sonmez F., and Boysan S. 2010. Effects of calcium nitrate and humic acid on pepper seedling growth under saline condition, Journal of Environmental Biology 31: 873-876.
14. Hatami E., Shokouhian A.A, Ghanbari A.R., and Naseri L. 2020. Investigation the effect of humic acid on some morphhophysiological and biochemical characteristics of almond rootstocks under salinity stress, Iranian Journal of Horticultural Science 15(3): 523-526. https://doi.org/ 10.22059/IJHS.2019.277630.1615.
15. Haleema B., Rab A., and Hussain S.A. 2018. Effect of Calcium, Boron and Zinc Foliar Application on Growth and Fruit Production of Tomato, Sarhad Journal of Agriculture 34(1): 19-30. http://dx.doi.org/10.17582/journal.sja/2018/34.1.19.30.
16. Hamauzu Y., Inno T., Kume C., Irie M., and Hiramatsu K. 2006. Antioxidant and antiulcerative properties of phenolics from Chinese quince, quince, and apple fruits, Journal of Agricultural and Food Chemistry 54: 765–772. https://doi.org/10.1021/jf052236y.
17. Hirschi K.D. 2004. The calcium conundrum. Both versatile nutrient and specific signal, Plant Physiology 136: 2438-2442. https://doi.org/10.1104/pp.104.046490.
18. Ho M.M., Burcher S., and Ching L.L. 2008. Food future now. Isis TWN Report.P.2.
19. Hussain N., Ali A., Sarwar G., Mujeeb F., and Tahir M. 2003. Mechanism of salt tolerance in rice, Pedosphere 13: 233-238.
20. Ilyas M., Ayub G., Hussain Z., Ahmad M., Bibi B., Rashid A., and Luqman. 2014. Response of tomato to different levels of calcium and magnesium concentration, World Applied Sciences Journal 31(9): 1560-1564.
21. Jifon J.L., and Leste G.E. 2009. Foliar potassium fertilization improves fruit quality of field-grown muskmelon on calcareous soils in south Texas, Journal of the Science of Food and Agriculture 89: 2452–2460. https://doi.org/10.1002/jsfa.3745.
22. Johnson R.S. 2008. Nutrient and water requirements of peach trees. In: The peach botany, production and uses, Lyne, D.R., Bassi, D. (eds.), CAB International. Cambridge 310–311.
23. Karakurt Y., Unlu H., Unlu H., and Padem H. 2009. The influence of foliar and soil fertilization of humic acid on yield and quality of pepper, Acta Agriculturae Scandinavica, Section B - Soil & Plant Science 59: 233-237. https://doi.org/10.1080/09064710802022952.
24. Khreba A.H., Hassan A.H., Ema M.S., and Atal S.A. 2014. Effect of some pre and postharvest treatments on quality and storability of strawberry fruits, Journal of American Science 10: 239-248.
25. Kulikova N.A., Stepanova E.V., and Koroleva O.V. 2005. Mitigating activity of humic substances: Direct influence on biota. In Use of Humic Substances to Remediate Polluted Environments: From Theory to Practice; Springer: Dordrecht, The Netherlands 285–309.
26. Malan C. 2015. Review: humic and fulvic acids. A Practical Approach. pp: 39. In Sustainable soil management symposium, Stellenbosch. 5-6 November 2015. Agrilibrium Publisher.
27. Moreira R., Chenlo F., Torres M.D., and Vallej N. 2008. Thermodynamic analysis of experimental sorption isotherms of loquat and quince fruits, Journal of Food Engineering 88: 514–521. https://doi.org/ 10.1016/j.jfoodeng.2008.03.011.
28. Neilsen G., Neilsen D., Dong S., Toivone P., and Peryea F. 2005. Application of $CaCl_2$ sprays earlier in the season may reduce bitter pit incidence in 'Braeburn' apple, HortScience 40: 1850-1853. https://doi.org/10.21273/HORTSCI.40.6.1850.
29. Parandian F., and Samavat S. 2012. Effects of fulvic acid and humic acid on anthocyanin, soluble sugar, α-amylase

enzyme and some micronutrients in lilium, International Research Journal of Applied and Basic Sciences 3(5): 924-929.
30. Piccolo A., Conte P., Spaccini R., and Chiarella M. 2003. Effects of some dicarboxylic acids on the association of dissolved humic substance, Biology and Fertility of Soils 37: 255–259. https://doi.org/ 10.1007/s00374-003-0583-8.
31. Piccolo A., and Mbagw J.S.C. 1999. Role of Hydrophobic Components of Soil Organic Matter in Soil Aggregate Stability, Soil Science Society of America Journal 63: 1801–1810. https://doi.org/10.2136/sssaj1999.6361801x.
32. Priya B.N.V., Mahavishnan K., Gurumurthy D.S., Bindumadhava H., Upadhyaya A.P., and Sharmaa N.K. 2014. Fulvic Acid (FA) for enhanced nutrient uptake and growth: Insights from biochemical and genomic studies, Journal Crop Improvement 28: 740-757.
33. Shahid M., Muhmood A., Ihtisham M., ur Rahman M., Amjad N., Sajid M., Riaz K., and Ali A. 2020. Fruit yield and quality of 'Florida King' peaches subjected to foliar calcium chloride aprays at different growth stages, Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus 19(1): 131-139. https://doi.org/10.24326/asphc.2020.1.12.
34. Suh H.Y., Yoo K.S., and Su S.G. 2014. Effect of foliar application of fulvic acid on plant growth and fruit quality of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.), Horticulture, Environment, and Biotechnology 55: 455–461. https://doi.org/10.1007/s13580-014-0004-y.
35. Tabatabaei S.J. 2013. Principles of mineral nutrition of plants, Tabriz University Press. 562p. (In Persian)
36. Vaughan D., and Ord B.G. 1981. Uptake and incorporation of14C-labelled soil organic matter by roots of *Pisum sativum* L., Journal of Experimental Botany 32: 679–687. https://doi.org/10.1093/jxb/32.4.679.
37. Wojdyło A., Oszmianski J., and Bielicki P. 2013, Polyphenolic composition, antioxidant activity, and polyphenol oxidase (PPO) activity of quince (*Cydonia oblonga* Miller) varieties, Journal of Agricultural and Food Chemistry 61: 2762–2772. https://doi.org/10.1021/jf304969b.
38. Yakhin O., Lubyanov A.A., Yakhin I.A., and Brown P. 2017. Biostimulants in plant science: a global perspective, Frontiers in Plant Science 7: 2049. https://doi.org/10.3389/fpls.2016.02049.
39. Zaky M.H., Zoah E.L., and Ahmed M.E. 2006. Effect of humic acids on growth and productivity of bean plants grown under plastic low tunnels and open field, Egyptian Journal of Applied Sciences 21: 582-596.

Journal of Horticultural Science
https:// jhs.um.ac.ir

Research Article
Vol. 36, No. 1, Spring 2022, p. 241-257

Impact of Postharvest Application of Ascorbic Acid on Storage Life and Quality Attributes of Persimmon Fruit (*Diospyros kaki* Thunb)

F. Nasr[1], V. Rabiei[2], F. Razavi[3*], G. Gohari[4]

Received:13-04-2021
Revised: 01-05-2021
Accepted: 05-06-2021
Available Online: 20-06-2022

How to cite this article:
Nasr F., Rabiei V., Razavi F., and Gohari G. 2022. Impact of Postharvest Application of Ascorbic Acid on Storage Life and Quality Attributes of Persimmon Fruit (*Diospyros kaki* Thunb). Journal of Horticultural Science 36(1): 241-257. (In Persian with English abstract)
DOI: 10.22067/JHS.2021.69745.1040

Introduction

Persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.) is an important fruit that is consumed due to high nutritional, desirable taste and flavor. Unfortunately, most persimmon fruit producers do not use the suitable technology to preserve the fruit quality, consequently, marketing their product at lower prices. The fruit of Karaj cultivar is one of the best and highest quality cultivars in Iran but this fruit is sensitive to chilling injury and shows drastic softening and reduced nutritional value as chilling damage. Appliacation of effective treatments for reducing chilling symptoms and preserve quality can lead to the increase of shelf life in this fruit. Ascorbic acid is an important nutrient that it is required for the functioning of several enzymes and is important for immune system function. It also functions as an antioxidant. Recently this treatment has gained much attention for use as an environmentally friendly technology for the maintenance of postharvest quality of many horticultural crops. In this regard, the aim of the present study was to assess the effect of ascorbic acid and storage time on the postharvest life of persimmon fruit.

Materials and Methods

Persimmon fruit (cv.'Karaj') was first harvested at physiological maturity stage from a commercial orchard in Karaj city, then immediately transported to the postharvest laboratory at University of Zanjan. Fruit selected for uniformity of size, shape, color and free from disease or mechanical damage. The treatments included ascorbic acid at three levels (15, 30 and distilled water as a control mmol.L^{-1}) and storage time at three levels (15, 30 and 45 day). Fruit was dipped in solution of Ascorbic acid 15 and 30 mmol.L^{-1} and distilled water (control) for 10 min. After treatment, the fruits were stored at +4°C and 85-90% relative humidity for 45 days. Fruits were sampled during storage after (15, 30 and 45 days) and 24 hours maintaining at room temperature and fruit firmness, weight loss, TSS, TA, vitamin C, total flavonoids, total phenol, soluble tannins, total carotenoids, antioxidant capacity and MDA were measured at the end of each period. Persimmon fruit samples were weighed before and after the storage to calculate weight loss (%) during storage by using the formula of [(weight of fruits before the storage − weight of fruits after the storage)/weight of fruits before storage] × 100. Fruit firmness was determined using OSK 1618 penetrometer equipped with an 8 mm tip at 3 equatorial points, and the results were expressed as kg/cm^2, Soluble tannin was measured by using the method of Tiara (1996). Total carotenoid was measured based on wang *et al* (2006), Total soluble solid (TSS) was measured by using refractometer, Ascorbic acid content was determined by using the method of Jalilimarandi (2000) and Antioxidant activity was evaluated by measuring the scavenging activity of the examined extracts on the 2,2-diphenylhydrazil (DPPH) radical as described by Dehghan and Khoshkam (2012). Statistical analysis was performed using SAS V9 software and the treatment means were separated by Duncan's multiple range tests.

1, 2 and 3- Ph.D. Student in Production and Postharvest Physiology of Horticultural Crops and Associate Professors, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: razavi.farhang@znu.ac.ir)
4- Associate Professor, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Maragheh, Iran

Results and Discussion

Results showed that all treatments showed significant effect on evaluated traits. All treatments preserved vitamin C and antioxidant activity of fruit compared with control. Ascorbic acid 30 $mmol.L^{-1}$ significantly preserved firmness, soluble tannin, total phenol, flavonoid, antioxidant capacity. Based on current results that ascorbic acid 15 and 30 $mmol.L^{-1}$ treatments were the most effective in delaying decrease weight loss by reduced metabolic activity, delayed senescence, and maintained better cellular integrity thereby worked in an integrated manner to reduce fresh weight loss of persimmon fruit. Increasing Ascorbic acid suppressed oxidative damage possibly by quenching hydrogen peroxide and superoxide anion. Therefore, positively correlated with higher membrane integrity and less MDA of persimmon fruit. Ascorbic acid is not only an important nutraceutical compound but also a critical antioxidant that positively eliminates certain reactive oxygen species and preserve antioxidant compounds such as phenol, flavonoid, carotenoid and vitamin C in post-harvest. Ascorbic acid 15 and 30 $mmol.L^{-1}$ treatments used in this experiment had no effect in changes TSS and total carotenoid. So ascorbic acid can improve effectively the quality and increase shelf life of fresh persimmon fruit in post-harvest.

Conclusion

In conclusion, our research indicates that ascorbic acid could prolong postharvest life of persimmon fruit by maintaining fruit quality attributes. Ascorbic acid treatment significantly is effective in preserving, firmness antioxidant compounds, quality properties and increasing the storage time of persimmon fruit of Karaj cultivar without harmful for human health. Hence, ascorbic acid treatment is a safe and applicable method of increasing the shelf life and preserving the quality in persimmon during cold storage.

Keywords: Soluble tannin, Shelf life, Total flavonoid, Total phenol, Total carotenoid

نشریه علوم باغبانی
https:// jhs.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۶، شماره ۱، بهار ۱۴۰۱، ص ۲۵۷-۲۴۱

تأثیر کاربرد پس از برداشت اسید آسکوربیک بر عمر انبارمانی و کیفیت میوه‌ی خرمالو (*Diospyros kaki* Thunb.)

فهیمه نصر[۱]- ولی ربیعی[۲]- فرهنگ رضوی[۳*]- غلامرضا گوهری[۴]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۱/۲۴.
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۳/۱۵

چکیده

با توجه به فسادپذیر بودن میوه خرمالو در دوره پس از برداشت و محدودیت استفاده از مواد شیمیایی، معرفی روش‌های طبیعی و سالم برای حفظ کیفیت و افزایش عمرانبارمانی خرمالو ضروری می‌باشد. این تحقیق به منظور بررسی اثر تیمار اسید آسکوربیک بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی میوه خرمالو رقم 'کرج' انجام شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل اسید آسکوربیک در سه سطح (۱۵، ۳۰ و صفر (شاهد) میلی‌مولار) به عنوان فاکتور اول و زمان انبارمانی در سه سطح (۱۵، ۳۰ و ۴۵ روز) به عنوان فاکتور دوم بودند. میوه‌ها به روش غوطه‌وری در محلول اسید آسکوربیک ۱۵ و ۳۰ میلی‌مولار و آب مقطر تیمار شدند و در یک دوره انباری ۴۵ روزه در سردخانه با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۸۵-۹۰ درصد نگهداری شدند. نتایج بدست آمده حاکی از تأثیر معنی‌دار تیمارها بر صفات مورد ارزیابی بود. تیمارهای اسید آسکوربیک ۱۵ و ۳۰ میلی‌مولار موجب حفظ ویتامین ث، فلاونوئید کل، ظرفیت‌آنتی‌اکسیدانی و تانن محلول در مقایسه با شاهد شدند. تیمار اسید آسکوربیک ۳۰ میلی‌مولار بهترین تیمار در بین تیمارهای اعمال شده در حفظ سفتی (۱/۶ کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع) تانن محلول (۱۸۸۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، فنول (۱۵۹۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و فلاونوئید کل (۳۰۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم) نسبت به شاهد بود. کاربرد اسید آسکوربیک ۱۵ و ۳۰ میلی‌مولار به طور مؤثری موجب تأخیر در افزایش مالون‌دی‌آلدهید (۱/۱ و ۲/۳ نانو مول بر گرم وزن‌تر) و کاهش وزن (۰/۸ و ۱/۳ درصد) نسبت به شاهد در طی ۴۵ روز انبارمانی شدند. با توجه به اثرات مثبت تیمار اسید آسکوربیک بر حفظ کیفیت و افزایش ماندگاری میوه خرمالو در طی ۴۵ روز انبارمانی، چنین به نظر می‌رسد که کاربرد این ترکیب در مقیاس وسیع به عنوان راهکار مناسب جهت افزایش کیفیت میوه خرمالو قابل توصیه باشد.

واژه‌های کلیدی: تانن محلول، عمر انبارمانی، فلاونوئیدکل، فنول کل، کاروتنوئیدکل

مقدمه

میوه‌ها و سبزی‌ها در رژیم غذایی انسان حائز اهمیت بوده و نقش مهمی در حفظ سلامت انسان دارند. تعداد زیادی از گیاهان به عنوان منابع غذایی مفید محبوبیت پیدا کرده‌اند که در این میان، خرمالو (*Diospyros kaki* L.) یکی از این میوه‌های مغذی است که به علت طعم مطلوب و ارزش تغذیه‌ای بالا روز به روز تقاضا برای تازه‌خوری آن در حال افزایش است (Suzuki *et al*., 2005). میوه خرمالو دارای ویتامین ث، مواد آنتی‌اکسیدانی، کربوهیدرات‌ها، اسیدهای آلی، ویتامین‌ها، قندها، تانن ها، پلی‌فنول‌ها، فیبرهای غذایی و کاروتنوئیدها است که این ترکیبات در سلامتی انسان اهمیت زیادی دارند (Celik and Ercisli, 2008). براساس آمار منتشرشده توسط سازمان جهانی فائو ایران رتبه پنجم را در تولید این محصول به خود اختصاص داده است (FAO, 2018) و در سال‌های اخیر پرورش و تولید آن در ایران در حال گسترش است. نکته قابل توجه این است که دوره برداشت خرمالو کوتاه بوده و متمرکز به ماه‌های آبان تا آذر است که در این

۱، ۲ و ۳- به‌ترتیب دانش آموخته دکتری فیزیولوژی تولید و پس از برداشت محصولات باغبانی و دانشیاران، گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران
۴- دانشیار، گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: razavi.farhang@znu.ac.ir)
DOI: 10.22067/JHS.2021.69745.1040

زمان کوتاه میزان زیادی خرمالو برداشت می‌شود (Salvador *et al.*, 2004). میوه‌های برداشت شده قابلیت فساد پذیری بسیار بالایی دارند، بنابراین به کارگیری تیمارهای مناسب و سالم که عوارض جانبی برای سلامتی انسان نداشته باشد جهت افزایش قابلیت ماندگاری و عرضه خارج از فصل و صادرات ضروری می‌باشد (Arnal and Del Rio, 2004). امروزه تمایل جهانی برای یافتن روش‌های جایگزین در کنترل ضایعات پس از برداشت با اولویت دادن به روش‌های سالم به منظور جلوگیری از تأثیر منفی سموم شیمیایی بر سلامتی انسان می‌باشد.

اسید آسکوربیک با فرمول شیمیایی $C_6H_8O_6$ به صورت پودر کریستالی بیرنگ، سفید، کمی مایل به زرد کمرنگ و بدون بو می‌باشد (Lin *et al.*, 2007). اسید اسکوربیک یک ویتامین محلول در آب است که نقش کلیدی در مهار گونه‌های فعال اکسیژن بازی می‌کند (Ozdemir and Gökmen, 2017). در سال های اخیر، استفاده از اسید آسکوربیک به عنوان یک ماده سالم و بدون عوارض جانبی برای سلامتی انسان به طور گسترده در حفظ کیفیت و افزایش عمرانباری محصولات باغبانی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Lin *et al.*, 2007). این ویتامین به‌عنوان یک اسیدآلی ضعیف در کاهش فعالیت بسیاری از باکتری‌ها از طریق کاهش pH نقش دارد که به‌طور مؤثری موجب جلوگیری از فعالیت باکتری‌ها در هویج (Tajkarimi and Ibrahim, 2011)، سیب (Perez-Gago *et al.*, 2006)، پاپایا (Tapia *et al.*, 2008)، اسفناج (Toledo *et al.*, 2003) و جک فروت (Acedo *et al.*, 2012) شده است. همچنین اسید آسکوربیک یک ماده آنتی‌اکسیدانی است و موجب جلوگیری از اکسیداسیون مواد آنتی‌اکسیدانی و کاهش مواد آنتی‌اکسیدانی در پس‌ازبرداشت می‌شود (Olivas *et al.*, 2007). این تیمار در طی فرآیند قهوه‌ای شدن آنزیمی از طریق بازگشت کوئینون به دی‌فنول از تجمع رنگدانه‌های ملانین در بافت جلوگیری کرده و از قهوه‌ای شدن میوه‌ها و سبزی‌ها ممانعت می‌کند (Lin *et al.*, 2007). تیمار اسید آسکوربیک قهوه‌ای شدن آنزیمی را از طریق افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در میوه گواوا به تأخیر انداخته و موجب حفظ کیفیت و افزایش عمرانبارمانی آن‌ها شده است (Azam *et al.*, 2020). سان و همکاران (Sun *et al.*, 2010) گزارش کردند که اسید آسکوربیک به‌طور مؤثری سبب مهار رشد میکروارگانیسم‌ها و حفظ سفتی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در میوه لیچی شده است. همچنین میوه‌های تیمار شده میزان مالون‌دی‌آلدهید و نشت‌یونی کمتری نسبت به شاهد در طی ۳۰ روز انبارمانی نشان داده‌اند. میوه‌های فلفل دلمه‌ای تیمار شده با اسید آسکوربیک نیز میزان سفتی، کاروتنوئیدکل، کلروفیل‌کل، ویتامین ث، فنول و فلاونوئید بیشتر و درصد کاهش وزن کمتری نسبت به شاهد نشان داده‌اند (Barzegar *et al.*, 2018). در گزارشی دیگر تیمار اسید آسکوربیک به همراه ژل آلوئه‌ورا در حفظ سفتی و جلوگیری از کاهش وزن میوه توت‌فرنگی مؤثر بوده و میوه‌های تیمار شده بیشترین میزان آنتوسیانین و آنتی‌اکسیدان‌کل را در طی ۲۰ روز انبارمانی نشان داده‌اند (Sogvar *et al.*, 2016). بنابراین استفاده از ترکیبات طبیعی برای حفظ کیفیت و افزایش عمرانبارمانی میوه‌ها و سبزی‌ها از اهمیت فراوانی برخوردار است. هدف از این پژوهش بررسی تأثیر استفاده از اسید آسکوربیک بر خصوصیات کیفی و افزایش عمر انبارمانی میوه خرمالو در طی ۴۵ روز انبارمانی بوده است.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در آزمایشگاه و سردخانه گروه علوم باغبانی دانشگاه زنجان در پاییز ۱۳۹۹ انجام شد. میوه‌های خرمالو (رقم محلی 'کرج') در مرحله بلوغ فیزیولوژیکی با مواد جامد محلول کل ۱۶/۲ درصد، پس از برداشت از باغ تجاری واقع در شهرستان کرج، جاده ملارد، شهریار با طول جغرافیایی ۵۰ درجه و ۵۸ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۳۵ دقیقه شمالی و ارتفاع ۱۱۴۰ متر از سطح دریا تهیه شد. بلافاصله پس از برداشت به آزمایشگاه گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان منتقل شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار و هر تکرار شامل پنج میوه در هر مرحله نمونه‌برداری انجام شد. فاکتور اول آزمایش شامل اسیدآسکوربیک در سه سطح (۱۵، ۳۰ و صفر (شاهد) میلی‌مولار) و فاکتور دوم زمان انبارمانی (۱۵، ۳۰ و ۴۵ روز) بود. میوه‌های سالم، یکنواخت و بدون هیچ گونه صدمه فیزیکی برای اعمال تیمارها گزینش شده و تحت تیمار اسید آسکوربیک قرار گرفتند. میوه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در تیمار اسید آسکوربیک ۱۵ و ۳۰ میلی‌مولار و تیمار شاهد در آب مقطر غوطه‌ور شدند. میوه‌های تیمار شده بعد از خشک شدن در در دمای اتاق (۲۵ درجه سانتی‌گراد)، به سردخانه با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۹۰- ۸۵ درصد منتقل شدند و در فواصل زمانی ۱۵، ۳۰ و ۴۵ روز مورد ارزیابی قرار گرفتند. همچنین به منظور ایجاد شرایطی مشابه با عمرقفسه‌ای معمول، قبل از اندازه‌گیری صفات، میوه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

صفات مورد ارزیابی

سفتی بافت میوه و درصدکاهش وزن

برای اندازه‌گیری سفتی بافت میوه از سفتی سنج دستی مدل (OSK 1618) ساخت کشور ژاپن با قطر پروب ۸ میلی‌متری استفاده شد. برای ارزیابی میزان درصد کاهش وزن قبل از شروع نگهداری و پس از خروج از انبار میوه‌ها با ترازوی دیجیتالی مدل (MAHAK) ساخت کشور ایران وزن شدند و درصد کاهش وزن میوه‌ها محاسبه گردید (Meng *et al.*, 2007).

مواد جامد محلول و اسید قابل تیتراسیون

برای اندازه‌گیری مواد جامد محلول کل از رفراکتومتر دیجیتالی مدل Atago-ATC-20€ ساخت کشور ژاپن استفاده شد. میزان اسید قابل تیتراسیون با تیتر نمودن آب میوه با سود ۰/۱ نرمال براساس pH پایانی ۸/۱–۸/۲ بدست آمد. درصد اسید قابل تیتراسیون براساس اسید غالب یعنی اسید مالیک و بر طبق رابطه زیر محاسبه شد. اکی‌والان اسید مالیک برابر ۰/۰۶۸ می‌باشد (Iranzo *et al.*, 1984).

رابطه (۱)

درصد اسید قابل تیتراسیون= [(حجم سود مصرفی × نرمالیته سود مصرفی×۰/۰۶۸) / (حجم نمونه تیتر شده)]×۱۰۰

اسید آسکوربیک، فلاونوئید کل و فنول کل

اندازه‌گیری اسید آسکوربیک (ویتامین ث) با استفاده از روش یدومتریک انجام گردید و برحسب میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر بیان شد (Jalilimarandi, 2000). محتوای فلاونوئید کل عصاره‌ها با روش ارائه شده توسط کاجو و همکاران (Kaijv *et al.*, 2006) اندازه‌گیری شد. جهت به دست آوردن منحنی کالیبراسیون از کوئرستین به عنوان استاندارد استفاده شد. به طوری که غلظت‌های مختلف آن به جای نمونه‌ها ریخته و میزان جذب آن‌ها توسط اسپکتروفتومتر مدل (SAFAS MONACO RS 232) ساخت کشور فرانسه در طول موج ۴۱۵ نانومترخوانده شد. محتوای فنول کل با استفاده از واکنش‌گر فولین سیکالتو اندازه‌گیری شد جهت به دست آوردن منحنی کالیبراسیون غلظت‌های مختلف گالیک اسید به جای نمونه‌ها ریخته و میزان جذب آن‌ها در طول موج ۷۲۰ نانومتر قرائت شد (Singliton and Rossi, 1965).

تانن محلول و کاروتنوئید کل

اندازه‌گیری غلظت تانن محلول نمونه‌ها پس از عصاره‌گیری نمونه با متانول ۸۰ درصد، بر طبق روش فولین دنیز انجام شد (Tiara, 1996). مقدار کاروتنوئید کل براساس روش وانگ و همکاران (Wang *et al.*, 2006) اندازه‌گیری و با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد.

رابطه (۲)

$$\text{Total carotenoid} = OD(480nm) \times 4$$

OD (480 nm): جذب در طول موج ۴۸۰ نانومتر، ۴: عددثابت

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH در طول موج ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شد (Dehghan & Khoshkam., 2012).

رابطه (۳)

$$RSA\ \% = \frac{100\ (A_C - A_S)}{A_C}$$

RSA: ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، AS:جذب نمونه حاوی عصاره، AC:جذب شاهد

مالون‌دی‌آلدهید(MDA) :

MDA بر اساس روش تیوباربیوتیک توصیف شده توسط زائو و همکاران (Zhao *et al.*, 2009) انجام شد. برای محاسبهٔ MDA از ضریب خاموشی معادل $155 mmol^{-1}cm^{-1}$ استفاده شد.

رابطه (۴)

$$MDA = [A532 - A600/155] \times 1000$$

آنالیز داده‌های حاصل با استفاده از نرم‌افزار SAS V9 و مقایسه میانگین داده‌ها از طریق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد و برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده شد.

نتایج و بحث

براساس نتایج تجزیه واریانس اثر تیمار اسیدآسکوربیک، اثر مدت زمان انبارداری و اثر برهمکنش بین تیمار و مدت زمان انبارداری بر سفتی بافت میوه، درصد کاهش وزن، ویتامین ث، تانن محلول، فلاونوئید کل، فنل کل، آنتی‌اکسیدان کل و مالون‌دی‌آلدهید معنی‌دار شد. ولی اثر تیمار بر مواد جامد محلول، اسید قابل تیتراسیون و کاروتنوئید کل و اثر برهمکنش تیمار و مدت زمان انبارداری بر مواد جامد محلول و کاروتنوئید کل معنی‌دار نشد (جدول ۲).

سفتی بافت میوه

سفتی بافت میوه در زمان صفر ۸/۲ کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع بود (جدول ۱) که در طی انبارمانی در همه نمونه‌ها کاهش یافت. تیمار اسید آسکوربیک به‌طور مؤثری موجب کند شدن فرایند نرم شدن بافت میوه طی دوره انبارمانی شد. در مدت زمان انبارداری ۱۵ و ۳۰ روز بیشترین میزان سفتی در تیمار اسید آسکوربیک ۱۵ و ۳۰ میلی‌مولار مشاهده شد. در مدت زمان انبارداری ۴۵ روز میوه‌های تیمار شده با اسید آسکوربیک ۳۰ میلی‌مولار دارای سفتی بیشتری نسبت به تیمار اسید آسکوربیک ۱۵ میلی‌مولار و شاهد بودند (شکل ۱). کمترین میزان سفتی بافت در شاهد مشاهده شد. حفظ سفتی از شاخص‌های اصلی کیفیت میوه و تعیین کننده عمر مفید پس از برداشت در خرمالو در طی انبارمانی می‌باشد (Martinez–Romero *et al.*, 2006). کاهش سفتی بافت میوه در نتیجه فعالیت آنزیم‌های هیدرولیز کننده دیواره سلولی نظیر پلی‌گالاکتروناز، پکتین متیل استراز و بتاگلوکوزیداز اتفاق می‌افتد که ناشی از شروع فرآیند پیری در نتیجه افزایش تولید رادیکال‌های آزاد می‌باشد (Perkin-Veazie,

(1995. اسید آسکوربیک به عنوان یک ماده آنتی‌اکسیدانی در حذف رادیکال‌های آزاد نقش اساسی دارد. همچنین اسید آسکوربیک از طریق کاهش تولید اتیلن و جلوگیری از فعالیت آنزیم‌های تخریب کننده دیواره سلولی باعث جلوگیری از نرم شدن بیشتر میوه می‌شود (Martínez-Ortiz *et al.*, 2019). تیمار اسید آسکوربیک به طور مؤثری موجب حفظ سفتی بافت میوه لیچی (Sun *et al.*, 2010) و فلفل دلمه‌ای (Barzegar *et al.*, 2018) در پس از برداشت شده است. در مطالعه‌ای دیگر افزایش سفتی بافت میوه همراه با افزایش غلظت تیمار اسید آسکوربیک در میوه توت‌فرنگی (Sogvar *et al.*, 2016) گزارش شده است که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد.

درصد کاهش وزن

با گذشت زمان انبارمانی درصد کاهش وزن تمامی نمونه‌ها افزایش یافت. درصد کاهش وزن در میوه‌های گروه شاهد بیشتر از تیمارهای اسید آسکوربیک ۱۵ و ۳۰ میلی‌مولار بود. نتایج نشان داد که تیمار اسید آسکوربیک به‌طور مؤثری موجب جلوگیری از کاهش وزن میوه خرمالو شد. در نمونه‌های تیمار شده با اسید آسکوربیک به طور معنی‌داری کاهش وزن کمتری نسبت به شاهد در طی ۴۵ روز انبارمانی مشاهده شد (شکل ۲).

جدول ۱- صفات کمی و کیفی خرمالو رقم 'کرج' در زمان برداشت

Table 1- Quantitative and qualitative traits of persimmon fruit ('Karaj' local cultivar) at harvest time

سفتی Firmness ($Kg.cm^2$)	مواد جامد محلول کل Total soluble solid (%)	اسید قابل تیتراسیون Titrable acidity (%)	کاهش وزن Weight loss (%)	اسیدآسکوربیک Ascorbic acid ($mg.100g^{-1}$ FW)	فلاونوئیدکل Total flavonoid ($mg.kg^{-1}$ FW)
8.2	16.2	0.59	0	22.8	796

ادامه‌ی جدول ۱- صفات کمی و کیفی خرمالو رقم کرج در زمان برداشت

Table 1 Continued- Quantitative and qualitative traits of persimmon fruit (Karaj local cultivar) at harvest time

فنول کل Total phenol ($(mg\ kg^{-1}$ FW)	تانن محلول Soluble tannin ($mg\ kg^{-1}$ FW)	کاروتنوئید کل Total carotenoid ($mg\ 100g^{-1}$ FW)	ظرفیت آنتی‌اکسیدانی Antioxidant capacity (٪)	مالون‌دی‌آلدهید Malondialdehyde ($nmol\ g^{-1}$ FW)
8365	5585	0.45	86	1.12

جدول ۲- تجزیه واریانس تاثیر اسید آسکوربیک بر صفات ارزیابی شده میوه خرمالو رقم محلی 'کرج' طی دوره انبارمانی

Table 2- ANOVA for the effect of ascorbic acid on evaluated characteristics of persimmon fruit cv. 'Karaj' during storage period

منابع تغییرات Sources of variations	درجه آزادی df	میانگین مربعات Means of Square					
		سفتی Firmness	کاهش وزن Weight loss	مواد جامد محلول‌کل TSS	اسید قابل تیتراسیون TA	ویتامین ث Vitamin C	فلاونوئید کل Total flavonoid
اسید آسکوربیک Ascorbic acid (AA)	2	9.39^{**}	2.47^{*}	2.17^{ns}	0.004^{ns}	122.98^{**}	$143934/33^{**}$
زمان انبارمانی Storage time (ST)	2	20.61^{**}	10.05^{**}	28.35^{*}	0.034^{**}	12.77^{*}	290308^{**}
AA×ST	4	1.34^{**}	0.391^{*}	0.888^{ns}	0.001^{*}	1.92^{*}	288.77^{**}
خطا Error	18	0.274	0.215	1.621	0.001	0.538	272.471
ضریب تغییرات C.V (%)		14.05	5.82	9.83	7.23	1.92	1.45

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

**, *, ns: Significant at the 1 and 5% of probability levels, and non-significant.

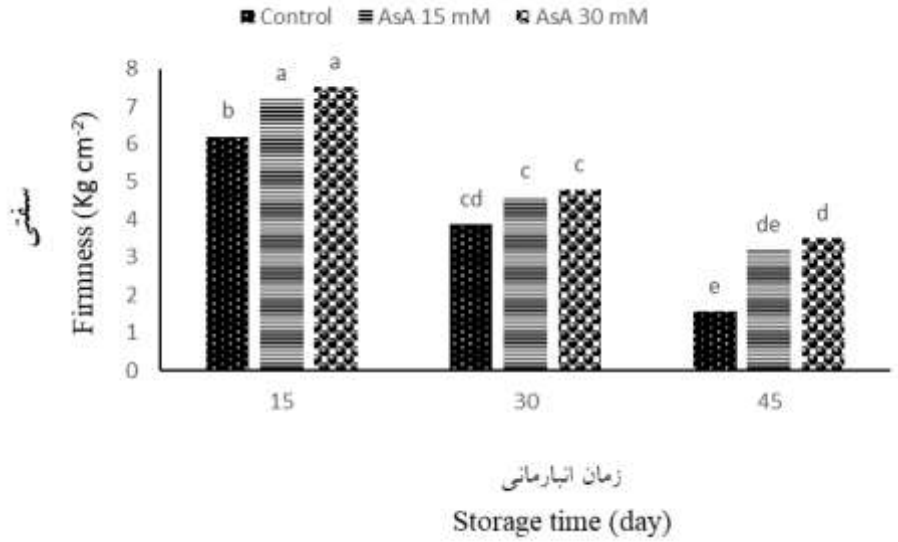
ادامه جدول ۲- تجزیه واریانس تاثیر اسید آسکوربیک بر صفات ارزیابی شده میوه خرمالو طی دوره انبارمانی

Table 2 Continued- Analysis of variance for the effect of ascorbic acid on evaluated characteristics of persimmon fruit during storage period.

منابع تغییرات Sources of variations	درجه آزادی Df	میانگین مربعات Means of Squar				
		فنول کل Total phenol	کاروتنوئیدکل Total carotenoid	تانن محلول Soluble tannin	ظرفیت آنتی‌اکسیدانی Antioxidant capacity	مالون‌دی‌آلدهید MDA
اسید آسکوربیک Ascorbic acid (AA)	2	15315636.70**	0.165ns	3410173.815*	109.86**	8.60*
زمان انبارمانی Storage time (ST)	2	48645750.1*	0.097*	14219627.26*	168.95**	7.31*
AA×ST	4	109105842.7*	0.005ns	1513952.92**	27.30*	1.61*
خطا Error	18	44708.815	0.003	125450.630	272.47	0.288
ضریب تغییرات C.V (%)		2.44	6.12	6.85	3.22	16.85

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

**, *, ns: Significant at the 1 and 5% of probability levels, and non-significant.

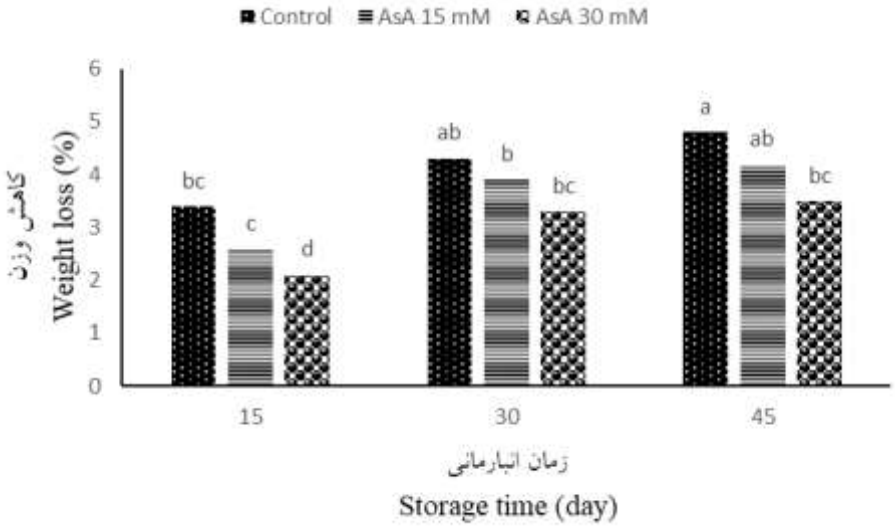


شکل ۱- تاثیر کاربرد پس از برداشت اسید آسکوربیک بر سفتی بافت میوه خرمالو رقم 'کرج' در طول دوره انبارمانی

Figure 1- The effect of postharvest ascorbic acid application on firmness of persimmon fruit cv. 'Karaj' during storage period

(DMRT, $p \leq 0.05$)

کمترین میزان کاهش وزن در تیمار اسید آسکوربیک ۳۰ میلی‌مولار در پایان انبارمانی مشاهده شد. طی انبارمانی به علت تشدید فرآیندهای تنفسی و پیری، مصرف مواد ذخیره‌ای افزایش یافته و درصد کاهش وزن افزایش می‌یابد (Meng *et al.*, 2007). یکی از مهم‌ترین اهداف افزایش عمر انبارمانی میوه خرمالو جلوگیری از کاهش وزن و چروکیدگی میوه در مرحله پس از برداشت است که این امر با کاهش سرعت تعرق و تنفس میسر است (Khademi *et al.*, 2012). اسید آسکوربیک به عنوان یک ماده آنتی‌اکسیدانی طبیعی پوششی را روی سطح میوه ایجاد می‌کند و موجب کاهش تنفس در میوه می‌شود، همچنین اسید آسکوربیک با تخریب گونه‌های فعال اکسیژن و کاهش اکسیداسیون مواد در سلول، پیری را به تأخیر انداخته و موجب جلوگیری از کاهش وزن در پس از برداشت می‌شود (Ali *et al.*, 2021). کاربرد اسید آسکوربیک در ترکیب با پوشش ژل آلوئه‌ورا برای جلوگیری از کاهش وزن میوه‌های توت فرنگی موثر واقع شده است (Sogvar *et al.*, 2016). در گزارشی دیگر اسفناج تیمار شده با اسیدآسکوربیک کاهش وزن کمتری نسبت به شاهد در طی انبارمانی نشان داده است (Toledo *et al.*, 2003)، که منطبق با نتایج پژوهش حاضر است.



شکل ۲- تاثیر کاربرد پس از برداشت اسید آسکوربیک بر درصد کاهش وزن میوه خرمالو رقم 'کرج' در طول دوره انبارمانی

Figure 2- The effect of postharvest ascorbic acid application on weight loss of persimmon fruit cv. 'Karaj' during storage period

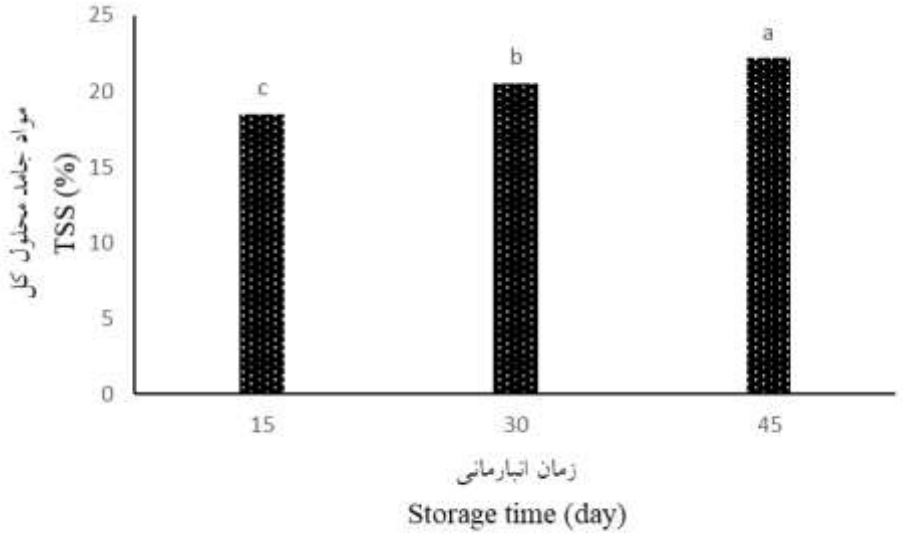
(DMRT, $p \leq 0.05$)

مواد جامد محلول کل و اسید قابل تیتراسیون

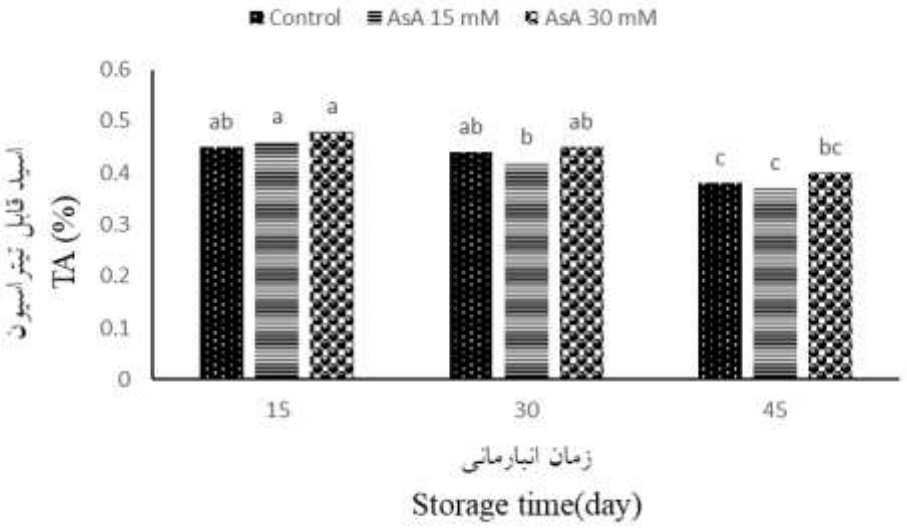
میزان مواد جامد محلول کل در زمان صفر ۱۶/۲ درصد بود (جدول ۱) که در طی انبارمانی در همه نمونه‌ها افزایش یافت (شکل ۳). تیمارهای اسید آسکوربیک ۱۵ و ۳۰ میلی‌مولار در جلوگیری از افزایش مواد جامد محلول تأثیری نداشتند. همچنین روند کاهشی معنی‌داری در میزان اسید قابل تیتراسیون طی دوره انبارمانی میوه‌های خرمالو مشاهده شد. کم‌ترین میزان اسید قابل تیتراسیون در انتهای دوره انبارمانی در میوه‌های شاهد مشاهده گردید. تیمار اسید آسکوربیک به صورت جزئی مانع کاهش میزان اسید قابل تیتراسیون در طی انبارمانی شد (شکل ۴). مواد جامد محلول و اسید قابل تیتراسیون ویژگی‌های مهمی هستند که در طعم، عطر و مزه میوه خرمالو تاثیر زیادی دارند. کاهش اسید قابل تیتراسیون و افزایش مواد جامد محلول به دلیل تجزیه اکسیداتیو صورت می‌گیرد (Ghasemnezhad *et al.*, 2011). تنفس باعث شکسته شدن پلی‌ساکاریدها و تبدیل آن‌ها به ترکیبات ساده‌تر و افزایش مواد جامد محلول می‌شود، همچنین با افزایش تنفس با تبدیل شدن اسیدهای آلی به قند از میزان آن‌ها در عصاره میوه کاسته می‌شود (Meng *et al.*, 2007). گزارشات متفاوتی از تأثیر اسید آسکوربیک در جلوگیری از تغییرات TSS و TA در دسترس است. در گزارشی تیمار اسید آسکوربیک تأثیری در جلوگیری از افزایش مواد جامد محلول در میوه زردآلو نداشته است (Hosseini *et al.*, 2011). تیمار اسید آسکوربیک با کاهش رادیکال‌های آزاد موجب کند شدن روند افزایش TSS در طی ۱۲ روز انبارمانی در میوه توت‌فرنگی شده است (Sogvar *et al.*, 2016). دراین آزمایش چون میزان مواد جامد محلول در خرمالو به ترکیبات مختلف مانند تانن محلول بستگی دارد، تیمار اسید آسکوربیک تاثیر زیادی در تغییرات آن نداشته است. آرو و همکاران (Arowora *et al.*, 2013) بیان کردند که احتمالاً اسید آسکوربیک با کاهش جذب اکسیژن در طی فرآیند متابولیسم موجب جلوگیری از کاهش اسید قابل تیتراسیون در طی انبارمانی می شود. اسید آسکوربیک موجب حفظ اسید قابل تیتراسیون در میوه گواوا در طی انبارمانی شده است (Azam *et al.*, 2020).

اسید آسکوربیک (ویتامین ث)

میزان ویتامین ث در زمان برداشت ۲۲/۸ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر بود که میزان آن در طی انبارمانی در شاهد و تیمارها افزایش یافت. تیمار اسید آسکوربیک از کاهش بیشتر ویتامین ث به‌طور مؤثری جلوگیری کرد. در زمان‌های بررسی ۳۰ روز بیشترین میزان ویتامین ث در تیمار اسید آسکوربیک ۱۵ و ۳۰ میلی‌مولار مشاهده شد. در مدت زمان انبارداری ۴۵ روز بیشترین میزان ویتامین ث در تیمار اسید آسکوربیک ۳۰ میلی‌مولار شد (شکل ۵).



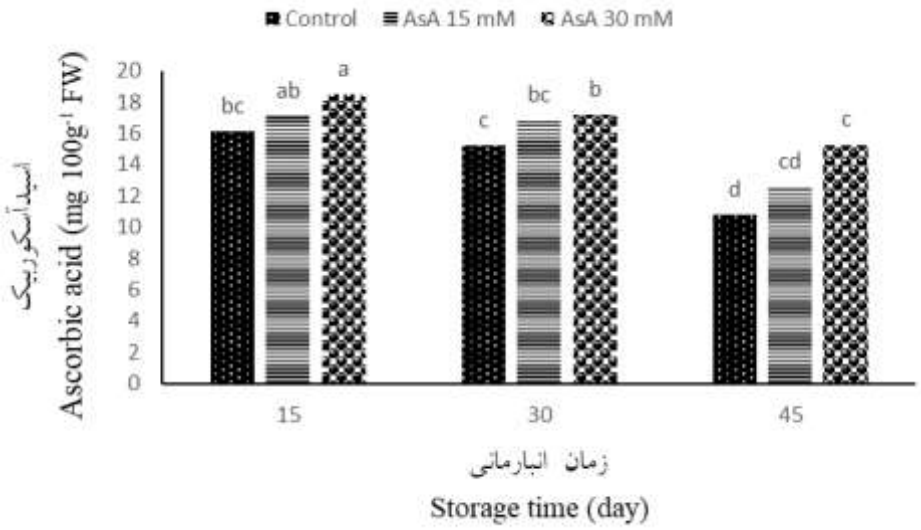
شکل ۳- تاثیر کاربرد پس از برداشت اسید آسکوربیک بر مواد جامد محلول کل میوه خرمالو رقم 'کرج' در طول دوره انبارمانی
Figure 3- The effect of postharvest ascorbic acid application on TSS of persimmon fruit cv. 'Karaj' during storage period (DMRT, $p \leq 0.05$)



شکل ۴- تاثیر کاربرد پس از برداشت اسید آسکوربیک بر اسید قابل تیتراسیون میوه خرمالو رقم 'کرج' در طول دوره انبارمانی
Figure 4- The effect of postharvest ascorbic acid application on TA of persimmon fruit cv. 'Karaj' during storage period (DMRT, $p \leq 0.05$)

ویتامین ث جزء مواد آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی می‌باشد که در طول مدت نگهداری یا رسیدگی میوه بر اثر اکسیداسیون و فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز به سرعت تجزیه شده و مقدار آن کاهش می‌یابد (Kazemi *et al.*, 2011). تیمار اسید آسکوربیک در مقابل پراکسید هیدروژن به عنوان گیرنده الکترون عمل می‌کند و از اکسیداسیون ویتامین ث در پس از برداشت جلوگیری می‌کند (Azam *et al.*, 2020). تیمار اسید آسکوربیک به تنهایی یا در ترکیب با تیمارهای دیگر به عنوان یک لایه محافظ از نفوذپذیری اکسیژن به داخل میوه جلوگیری کرده و در نتیجه اکسیداسیون ویتامین ث را در درون میوه‌هایی مانند لیچی (Sun *et al.*, 2010) و فلفل دلمه‌ای (Barzegar *et al.*, 2018) در پس از برداشت به تأخیر انداخته است. زینگ و همکاران (Xing *et al.*, 2010)، گزارش کردند که افزایش بیوسنتز یا کاهش تجزیه ویتامین ث از طریق حذف رادیکال‌های آزاد بوسیله تیمار اسید آسکوربیک در میوه‌های تیمار شده با اسید

آسکوربیک مشاهده شده است. همچنین تیمار اسید آسکوربیک به طور مؤثری موجب جلوگیری از کاهش ویتامین ث در توت‌فرنگی شده است (Sogvar *et al*., 2016) که با نتایج ما مطابقت دارد.



شکل ۵- تاثیر کاربرد پس از برداشت اسید آسکوربیک بر اسید آسکوربیک میوه خرمالو رقم 'کرج' در طول دوره انبارمانی

Figure 5- The effect of postharvest ascorbic acid application on ascorbic acid of persimmon fruit cv. 'Karaj' during storage period

(DMRT, *p≤0.05*)

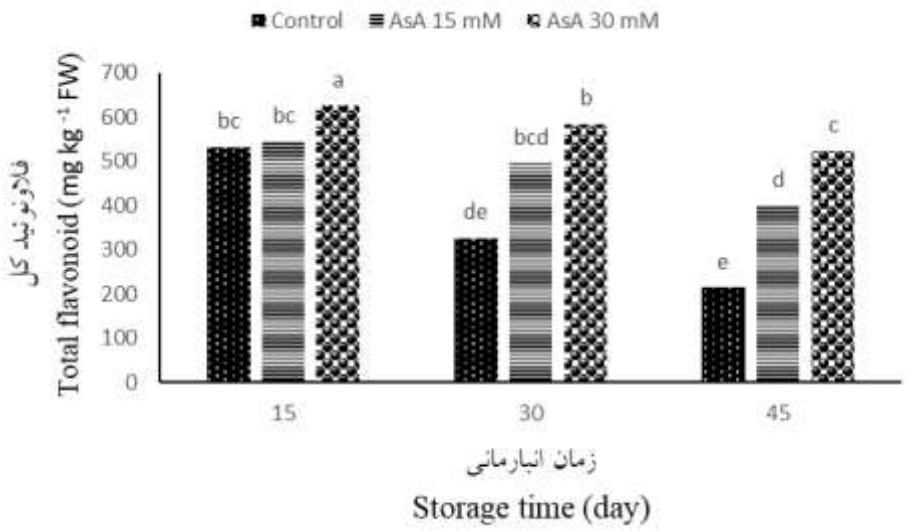
فلاونوئید و فنول کل

نتایج حاصل از اندازه‌گیری فلاونوئید و فنول کل میوه‌ها نشان داد که با افزایش طول دوره انبارمانی میزان فلاونوئید و فنول کل میوه‌ها کاهش یافت. تیمار اسید آسکوربیک اثر معنی‌داری بر میزان فلاونوئید کل در طول دوره ۴۵ روزه انبارمانی در مقایسه با شاهد داشت. در مدت زمان انبارداری ۳۰ و ۴۵ روز بیشترین میزان فلاونوئید کل در تیمار اسید آسکوربیک ۳۰ میلی‌مولار مشاهده شد (شکل ۶). تیمار اسید آسکوربیک به‌طور معنی‌داری موجب حفظ فنول کل در طی انبارمانی شد. در پایان انبارمانی بیشترین میزان فنول کل در تیمار اسید آسکوربیک ۳۰ میلی‌مولار و کمترین در شاهد مشاهده شد (شکل ۷). ترکیبات فنولی به دلیل تأثیر آن‌ها در ویژگی‌های کیفی مانند رنگ، گسی، تلخی، عطر و طعم میوه‌ها و سبزی‌ها مهم هستند (Vinson *et al*., 2001). تحقیقات مختلف نقش آنتی‌اکسیدانی فنول‌ها و فلاونوئیدها را ثابت کرده است (Mackerness *et al*., 2001)، غلظت ترکیبات فنولی میوه‌ها به تدریج در طی انبارمانی کاهش می‌یابد، که با افزایش فعالیت پلی‌فنول‌اکسیداز مرتبط است (Parr and Bolwell, 2000). عواملی مانند تنش‌ها و پیری باعث تولید رادیکال‌های آزاد می‌شوند که سلول‌های میوه برای حذف رادیکال‌های آزاد از مواد آنتی‌اکسیدانی مانند فنول و فلاونوئید کمک می‌گیرند (Asghari and Babalar, 2010). نقش اسید آسکوربیک در حفظ فنول و فلاونوئید کل به نقش آنتی‌اکسیدانی آن و حذف رادیکال‌های آزاد مربوط است (Singh and Pal, 2008). ساین و پال (Singh and Pal, 2008) گزارش کردند که تیمار اسید آسکوربیک با حذف رادیکال‌های آزاد به‌طور مؤثری موجب جلوگیری از کاهش فنول و فلاونوئید کل در میوه گواوا شده است. همچنین تیمار اسید آسکوربیک با کاهش فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز، موجب حفظ فنول و فلاونوئید کل در فلفل دلمه‌ای و میوه توت‌فرنگی در طی دوره انبارمانی شده است (Sogvar *et al*., 2016; Barzegar *et al*., 2018). که منطبق با نتایج پژوهش حاضر است.

تانن محلول

نتایج نشان داد که میزان تانن محلول در طول دوره نگهداری در میوه‌های شاهد و تیمار شده با اسید اسکوربیک کاهش می‌یابد. در مدت زمان انبارداری ۱۵ و ۳۰ روز بیشترین میزان تانن محلول در تیمار اسید آسکوربیک ۱۵ و۳۰ مولار مشاهده شد ولی در مدت زمان انبارداری ۴۵ روز تیمار اسید آسکوربیک ۳۰ میلی‌مولار به طور مؤثری مانع از کاهش تانن محلول در میوه‌های خرمالو شد (شکل ۸). تانن محلول جزء ترکیبات فنولی است. تانن محلول موجود درسلول‌هایی موسوم به سلول‌های تاننی عامل ایجاد طعم گس در انواع گس میوه خرمالو می‌باشند (Matsuo and Itoo, 1978). میزان تانن محلول از

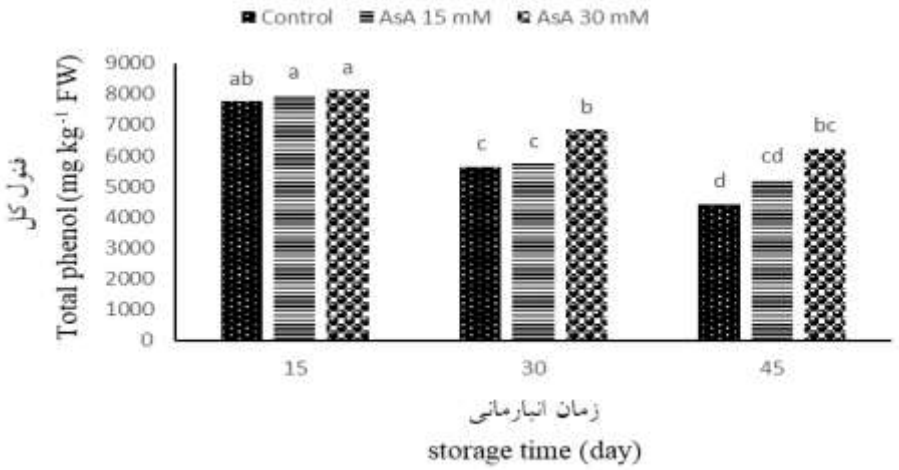
مشخصه‌های اصلی در ارتباط با کیفیت میوه خرمالو رسیده است. کـه میزان آن در طول دوره انبارمانی به طور مداوم کاهش می‌یابد که بـه علت تشکیل کمپلکس بین پکتین آزاد شده از دیـواره سـلولی و تـانن می‌باشد (Taira *et al*., 1997).



شکل ۶- تاثیر کاربرد پس از برداشت اسید آسکوربیک بر فلاونوئید کل میوه خرمالو رقم 'کرج' در طول دوره انبارمانی

Figur 6-The effect of postharvest ascorbic acid application on total flavonoid of persimmon fruit cv. 'Karaj' during storage period

(DMRT, *p≤0.05*)

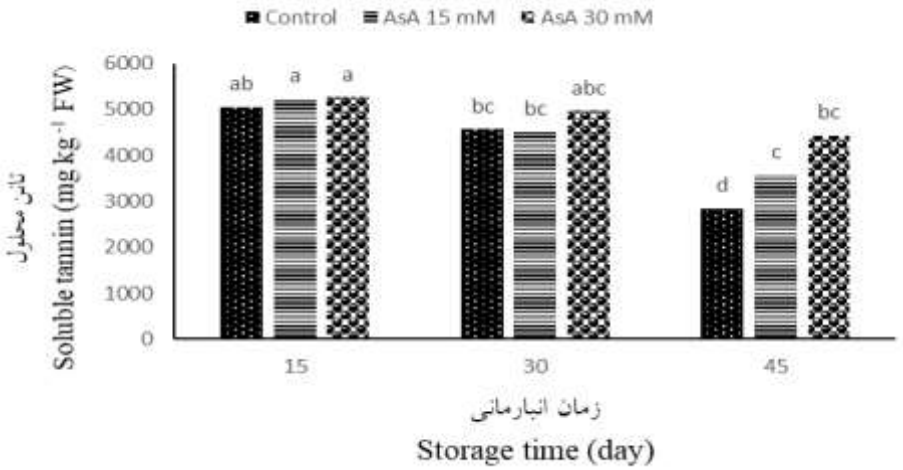


شکل ۷- تاثیر کاربرد پس از برداشت اسید آسکوربیک بر فنول کل میوه خرمالو رقم 'کرج' در طول دوره انبارمانی

Figur 7- The effect of postharvest ascorbic acid application on total phenol of persimmon fruit cv. 'Karaj' during storage period

(DMRT, *p≤0.05*)

اسید آسـکوربیک بـا کـاهش تولیـد اتـیلن موجـب جلـوگیری از پلیمریزه شدن تانن در طول انبارمانی می‌شـود، ایـن تیمـار بـا نقـش آنتی‌اکسیدانی خود و تخریب رادیکال‌های آزاد مقاومت بـه تنش‌هـا را زیاد می‌کند که با افزایش ترکیبات فنولی ماننـد تـانن محلـول همـراه است (Sogvar *et al*., 2016). در مطالعه‌ای دیگر اسید آسکوربیک با کاهش فعالیت آنزیم‌هـای تخریـب کننـده ترکیبـات فنـولی در حفـظ ترکیبات فنولی (مانند تانن محلول) در میوه توت‌فرنگی در انبـار سـرد بسیار مؤثر بوده است (Turmanidze *et al*., 2017). آزم و همکاران (Azam *et al*., 2020) مشاهده کردند که اسید آسکوربیک بـا نقـش آنتی‌اکسیدانی خود موجب حفظ ترکیبات فنولی و تانن محلول در میوه گواوا در انبار سرد شده است.



شکل ۸- تاثیر کاربرد پس از برداشت اسید آسکوربیک بر تانن محلول میوه خرمالو رقم 'کرج' در طول دوره انبارمانی

Figure 8- The effect of postharvest ascorbic acid application soluble tannin of persimmon fruit cv. 'Karaj' during storage period

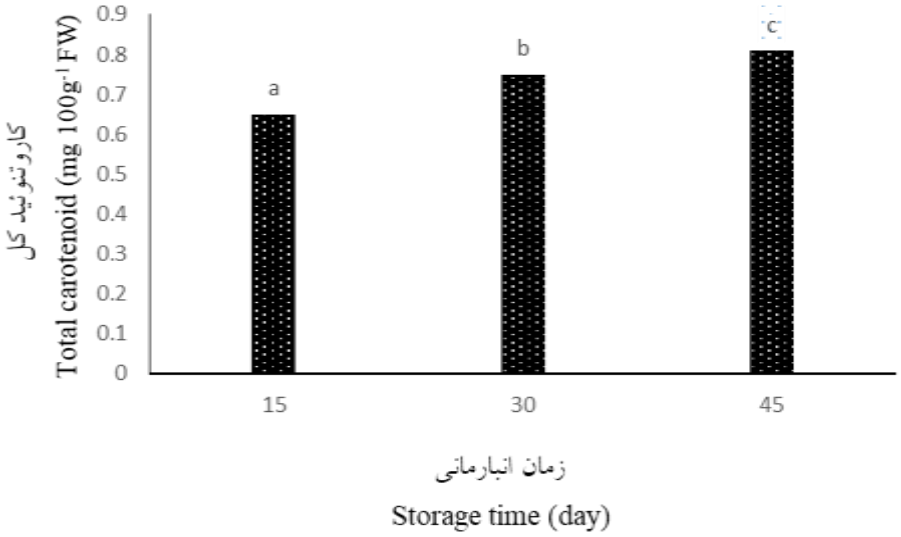
(DMRT, $p \leq 0.05$)

کاروتنوئید کل

میزان کاروتنوئید کل در زمان صفر ۰/۴۵میلی‌گرم در ۱۰۰گرم وزن تر بود (جدول ۱) که میزان آن در طی انبارمانی افزایش یافت. تیمارهای اسید آسکوربیک ۱۵ و ۳۰ میلی‌مولار در جلوگیری از تغییرات کاروتنوئید کل در این آزمایش تأثیری نداشتند (شکل ۹). کمترین میزان کاروتنوئید کل در شاهد مشاهده شد. کاروتنوئیدها به عنوان ترکیبات رنگی زرد، نارنجی و قرمز با فعالیت بیولوژیکی مهم در میوه‌ها و سبزی‌ها گسترش داشته و از بیماری‌های مزمن جلوگیری می‌کنند (Kumazawa *et al.*, 2002). گزارش شده است که در کلروپلاست‌ها کاروتنوئیدها به عنوان رنگیزه‌های کمکی عمل می‌کنند ولی نقش مهم‌ترشان نقش آنتی‌اکسیدانی آن‌ها می‌باشد (Taira, 1996). باتوجه به اینکه میوه خرمالو غنی از رنگدانه‌های کارتنوئیدی می‌باشد رنگ میوه‌ها در طول انبارمانی از زرد به نارنجی پررنگ تغییر می‌کند. زیگزانتین و کریپتوزانتین از جمله کاروتنوئیدهای مهم خرمالو می‌باشد (Schon, 1935). گزارشات متفاوتی از تأثیر اسید آسکوربیک در حفظ کاروتنوئید کل در پس از برداشت وجود دارد. تیمار اسید آسکوربیک از طریق فعالیت آنتی‌اکسیدانی و تخریب رادیکال‌های آزاد مانع از افزایش کاروتنوئید کل در میوه توت‌فرنگی شده است (Barzegar *et al.*, 2018). موریس و همکاران (Morais *et al.*, 2002) گزارش کردند که تیمار اسیدآسکوربیک تأثیری در جلوگیری از افزایش کاروتنوئید میوه فلفل نداشته است.

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی

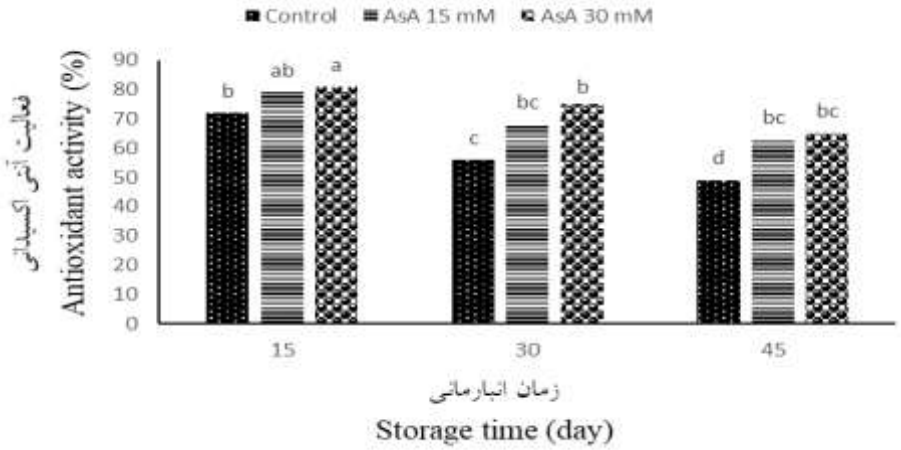
طبق جدول ۲ اثر تیمار اسید آسکوربیک و اثر مدت زمان انبارداری در سطح یک درصد و اثر متقابل آن‌ها بر میزان آنتی‌اکسیدان کل میوه خرمالو در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد. با گذشت زمان آزمایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تمامی نمونه‌ها به طور معنی‌داری کاهش یافت. تیمار اسید آسکوربیک به‌طور مؤثری موجب جلوگیری از کاهش آنتی‌اکسیدان کل در طی ۴۵ روز انبارمانی شد. در مدت زمان انبارداری ۴۵ روز بیشترین میزان آنتی‌اکسیدان کل در تیمار اسید آسکوربیک ۳۰ میلی‌مولار و کمترین در شاهد مشاهده شد (شکل ۱۰). ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه‌ها و سبزی‌ها از فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و همچنین ترکیبات غیرآنزیمی شامل ویتامین ث، ترکیبات فنولی و کارتنوئیدها حاصل می‌شود (Zhao-liang *et al.*, 1998). عواملی مانند تنش‌ها و پیری باعث تولید رادیکال‌های آزاد می‌شوند که سلول‌های میوه برای حذف رادیکال‌های آزاد از آنتی‌اکسیدان‌ها کمک می‌گیرند. ترکیبات آنتی‌اکسیدانی با دادن الکترون به رادیکال‌های آزاد، اکسیده شده و ایجاد خسارت توسط گونه‌های فعال اکسیژن را کاهش می‌دهند (Gil *et al.*, 2002). اسید آسکوربیک با خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود منجر به تخریب رادیکال‌های آزاد و باعث حفظ ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه‌ها در طول انبارمانی می‌شود (Sogvar *et al.*, 2016). تیمار اسید آسکوربیک به‌طور مؤثری موجب حفظ ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در میوه گواوا در طی ۱۲ روز انبارمانی شده است (Azam *et al.*, 2020). همچنین این تیمار در حفظ ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در میوه لیچی (Sun *et al.*, 2010) و فلفل دلمه‌ای (Barzegar *et al.*, 2018). موثر بوده است که با نتایج این آزمایش مطابقت دارد.



شکل ۹- تاثیر کاربرد پس از برداشت اسید آسکوربیک بر کاروتنوئید کل میوه خرمالو رقم 'کرج' در طول دوره انبارمانی

Figure 9- The effect of postharvest ascorbic acid application on total carotenoid of persimmon fruit cv. 'Karaj' during storage period

(DMRT, *p≤0.05*)



شکل ۱۰- تاثیر کاربرد پس از برداشت اسید آسکوربیک بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه خرمالو رقم 'کرج' در طول دوره انبارمانی

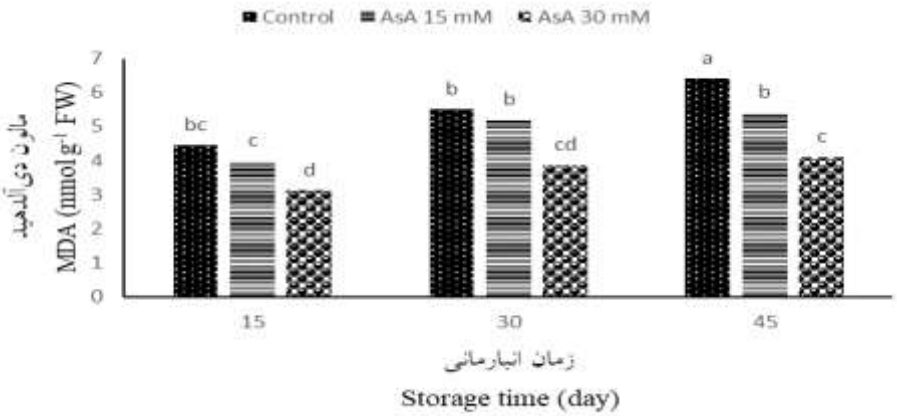
Figure 10- The effect of postharvest ascorbic acid application on antioxidant activity of persimmon fruit cv. 'Karaj' during storage period

(DMRT, *p≤0.05*)

مالون‌دی‌آلدهید (MDA)

میزان مالون‌دی‌آلدهید در طی انبارمانی در میوه‌های تیمار شده با اسید آسکوربیک و میوه‌های شاهد افزایش یافت. اثر تیمار، مدت زمان انبارداری و اثر متقابل تیمار و مدت زمان انبارداری در سطح ۵ درصد بر میزان MDA معنی‌دار شد (جدول ۲). نتایج حاصل از اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدهید میوه‌ها نشان داد در مدت زمان انبارداری ۱۵ و۳۰ روز اختلاف قابل ملاحظه‌ای بین تیمار اسید آسکوربیک ۱۵ میلی‌مولار و شاهد مشاهده نشد. تیمار اسید آسکوربیک ۳۰ میلی‌مولار به طور مؤثری موجب جلوگیری از افزایش میزان مالون‌دی‌آلدهید در طی انبارمانی شد (شکل ۱۱). مالون‌دی‌آلدهید محصول ثانویه اکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع غشاء است که به عنوان شاخصی از پراکسیداسیون چربی‌های غشا می‌باشد (Mo *et al*., 2008). تولید بیشتر رادیکال‌های پراکسیدهیدروژن و سوپراکسید منجر به آسیب غشایی و پراکسیداسیون لیپیدهای غشا می‌شود (Zhang *et al*.,

(2015. اسید آسکوربیک یک ماده آنتی‌اکسیدانی است که تولید رادیکال‌های آزاد مانند پراکسید هیدروژن و آنیون سوپراکسید را کاهش می‌دهد، در نتیجه منجر به کاهش آسیب اکسیداتیو و کاهش تولید MDA می‌شود (Ali *et al*., 2021). تیمار اسید آسکوربیک به طور موفقیت‌آمیزی موجب کاهش MDA در میوه لیچی در پس از برداشت شده است (Sun *et al*., 2010)



شکل ۱۱- تاثیر کاربرد پس از برداشت اسید آسکوربیک بر مالون‌دی‌آلدهید میوه خرمالو رقم 'کرج' در طول دوره انبارمانی

Figure 11- The effect of postharvest ascorbic acid application on MDA of persimmon fruit cv. 'Karaj' during storage period (DMRT, $p \leq 0.05$)

نتیجه‌گیری

اسید آسکوربیک یکی از مهمترین ترکیبات طبیعی و سازگار با سلامت انسان و طبیعت دارای ارزش دارویی و غذایی است که می‌تواند موجب افزایش ماندگاری و حفظ کیفیت میوه در پس از برداشت شود. تیمار اسید آسکوربیک به طور معنی‌داری موجب حفظ سفتی، میزان فنول و فلاونوئیدکل، اسید آسکوربیک، تانن محلول و آنتی‌اکسیدان کل در مقایسه با شاهد شد. همچنین میوه‌های تیمار شده کمترین میزان مالون‌دی‌آلدهید و درصد کاهش وزن و بیشترین میزان اسیدقابل تیتراسیون را نشان دادند. تیمار اسید آسکوربیک ۳۰ میلی‌مولار در حفظ کیفیت و افزایش عمر انبارمانی بسیار مؤثرتر بود. باتوجه به نتایج این پژوهش توصیه می شود تولید کنندگان خرمالو با کاربرد تیمار اسیدآسکوربیک از کاهش وزن میوه طی انبارمانی جلوگیری کرده و در نتیجه میوه خرمالو را تا مدت زمان بیشتر بعد از برداشت با کیفیت مساعد نگهداری کرده و با بهای مناسب به بازار عرضه نمایند.

منابع

1. Acedo J.Z., Varron D.A.C., Emnace I.C., Lauzon R.D., and Acedo A.L. 2012. Antimicrobial effects of ascorbic acid and calcium lactate in freshcut jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.). Acta Horticulturae https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2013.989.25.
2. Ali S., Khan A.S., Malikb A.U., Anwar R., Akbar M., Nawaza A., Shafique M., and Naz S. 2021. Combined application of ascorbic and oxalic acids delays postharvest browning of litchi fruits under controlled atmosphere conditions. Food Chemistry 350: 21-31. https://doi.org/ 10.1016/j.foodchem.2021.129277.
3. Ali S., Anjum M.A., Nawaz A., Naz S., Hussain S., Ejaz S., and Sardar H. 2020. Effect of pre-storage ascorbic acid and Aloe vera gel coating application on enzymatic browning and quality of lotus root slices. Journal of Food Biochemistry 44(3): 33-46. https://doi.org/10.1111/jfbc.13136.
4. Arnal L., and Del Rio M. 2004. Effect of cold storage and removal astringency on quality of persimmon fruit (*Diospyros kaki* L.) cv. Rojo Brillante. Food Science and Technology 10: 179–185. https://doi.org/10.1177/1082013204044824.
5. Arowora K., Williams J., Adetunji C., Fawole O., Afolayan S., Olaleye O., and Ogundele B. 2013. Effects of Aloe vera coatings on quality characteristics of oranges stored under cold storage. Greener Journal of Agricultural Sciences 3(1): 39-47. http://doi.org/10.15580/GJAS.2013.1.110112192.
6. Asghari M.R., and Babalar M. 2010. Use of salycilic acid to increase strawberry fruit total antioxidant activity. Acta Horticulturae 877: 1117-1122. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2010.877.152.

7. Azam M., Hameed L., Qadri A., Ejaz S., Aslam A., Khan M., Shen J., Zhang J., Nafes M., Ahmad M., Chen J., and Anjum N. 2020. Postharvest ascorbic acid application maintained physiological and antioxidant responses of Guava (*Psidium guajava* L.) at ambient storage. Food Science and Technology 45: 117-125. https://doi.org/10.1590/fst.19820.
8. Barzegar T., Fateh M., and Razavi F. 2018. Enhancement of postharvest sensory quality and antioxidant capacity of sweet pepper fruits by foliar applying calcium lactate and ascorbic acid. Scientia Horticulturae 241: 293-303. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.07.011
9. Celik A., and Ercisli S. 2008. Persimmon, cv. Hachiya (*Diospyros kaki* Thunb.) fruit: some physical, chemical and nutritional properties. International Journal of Food Sciences and Nutrition 59: 599-606. https://doi.org/10.1080/09637480701538221.
10. Dehghan J., and Khoshkam Z. 2012. Tin (II)–quercetin complex: Synthesis, spectral characterisation and antioxidant activity. Food Chemistry 131: 422–426. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.08.074.
11. Egert M., and Tevini M. 2002. Influence of drought on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress in leaves of chives (*Allium schoenoprasum*). Environmental and Experimental Botany, 48: 43-49. https://doi.org/10.1016/S0098-8472(02)00008-4.
12. FAOSATE. 2018. Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO database.
13. Ghasemnekhad M., Zreh S., Rassa M., and Hassan R., Sajedi R. 2012. Effect of Chitosan Coating on Maintenance of Aril Quality. Microbial Population and PPO Activity of Pomegranate (*Punica granatum* L. Var. Tarom) at Cold Storage Temperature. Journal of the Science of Food and Agriculture 93: 368. https://doi.org/10.1002/jsfa.5770.
14. Gil M.I., Tomas-Barberan F.A., Hess B., Holcroft D.M., and Kader A.A. 2000. Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. Journal of Agricultural and Food Chemistry 48: 4581-4589. https://doi.org/10.1021/jf000404a.
15. Hosseini M., Mostafavi M., Hadavi A., and Rezaei M. 2011. Review of the effect of ascorbic acid, citric acid and sodium meta bisulphite on physicochemical and organoliptic characteristics of apricot (*Prunus armeniaca* L.) cultivar Jahangiri. Journal of Horticultural Science 26: 67-63.
16. Iranzo B., Pertegaz J.C., and Balsalobre A.P. 1984. Characterization and measurement of astringency and tannin content in Rojo Brillanteg persimmon quality and systems. Acta Horticulturae 601: 227-231.
17. Jalilimarandi R. 2000. Postharvest Physiology (Handling and storage of fruits, vegetables and ornamental plants). Publishers Jihad Urmia University. Second edition. p. 276
18. Kaijv M., Sheng L., and Chao C. 2006. Antioxidation of flavonoids of Green Rhizome. Food Science and Technology 27: 110–115.
19. Kazemi M., Aran M.A., and Zamani S. 2011. Effect of calcium chloride and salcylic acid treatments quality on characteristics of kiwifruit (*Actinidia deliciosa* cv. Haywad) during Storage. American Journal of Plant Physiology 6: 183-189. https://doi.org/10.3923/ajpp.2011.183.189.
20. Khademi O., Zamani Z., Mostofi Y., Kalantari S., and Ahmadi A. 2012. Extending storability of persimmon fruit cv. Karaj by postharvest application of salicylic acid. Journal of Agricultural Science and Technology 14: 1067-1074.
21. Kumazawa S., Taniguchi M., Suzuki Y., Shimura M., Kwon M.S., and Nakayama T. 2002. Antioxidant activity of polyphenols in carob pods. Journal of Agricultural and Food Chemistry 50: 373–7. https://doi.org/10.1021/jf010938r.
22. Lin L., Li Q.P., Wang B.G., Cao J.K., and Jiang W.B. 2007. Inhibition of core browning in “Yali” pear fruit by post-harvest treatment with ascorbic acid. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology 82(3): 397–402. https://doi.org/10.1080/14620316.2007.11512250.
23. Mackerness S.A.H., John C.F., Jordan B., and Thomas B. 2001. Early signaling components in ultraviolet responses: distinct role for different reactive oxygen species and nitric oxide. FEBS Letters 489: 237–242. https://doi.org/10.1016/S0014-5793(01)02103-2.
24. Martinez-Romero D.N., Alburquerqu J.M., Valverde F., Guill N.S., Castillo D., Valero and Serrano M. 2006. Postharvest sweet cherry quality and safety maintenance by *Aloe vera* a new edible coating. Postharvest Biology and Technology 39: 93-100. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2005.09.006.
25. Martínez-Ortiz M., Palma-Rodríguez H., Montalvo-González M., Sayago-Ayerdib S., Vargas-Torres A. 2019. Effect of using microencapsulated ascorbic acid in coatings based on resistant starch chayotextle on the quality of guava fruit. Scientia Horticulturae 15: 26-38. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108604.
26. Matsuo T., and Itoo S. 1978. The chemical structure of kaki tannin from immature fruit of the persimmon (*Diospyros kaki* L.). Agriculture and Biology Chemistry 42: 1637-43.
27. Meng X., Li B., Liu J., and Tian S. 2007. Physiological responses and quality attributes of table grape fruit to chitosan pre-harvest spray and postharvest coating during storage. Food Chemistry 106: 501-508. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.06.012.
28. Mo Y.W., Gong D.Q., Liang G.B., Han R.H., Xie J.H., and Li W.C. 2008. Enhanced preservation effects of sugar apple fruit by salicylic acid treatment during storage. Journal of the Science of Food and Agriculture 88(15): 2693-

2699. https://doi.org/10.1002/jsfa.3395.
29. Morais H., Rodrigues P., Ramos C., Forgács H., Cserhati T., and Oliveira J. 2002. Effect of ascorbic acid on the stability of beta-carotene and capsanthin in paprika (*Capsicum annuum*) powder. National Center for Biotechnology Information 46: 23-45. https://doi.org/10.1002/1521-3803(20020901)46:5<308::AID-FOOD308>3.0.CO;2-B.
30. Olivas G., Mattinson D., and Barbosa C.G. 2007. Alginate coatings for preservation of minimally processed Gala'apples, Postharvest Biology and Technology 45: 89-96. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2006.11.018.
31. Ozdemir K.S., and Gökmen V. 2017. Extending the shelf-life of pomegranate arils with chitosan-ascorbic acid coating. LWT - Food Science and Technology 76: 172–180. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.10.057.
32. Parr A.J., Bolwell G.P. 2000. Phenols in the plant and in man. The potential for possible nutritional enhancement of the diet by modifying the phenols content or profile. Journal of the Science of Food and Agriculture 80: 985–1012.
33. Perez-Gago M.B., Serra M., and DelRio M.A. 2006. Color change of fresh-cut apples coated with whey protein concentrate-based edible coatings. Postharvest Biology and Technology 39: 84–92. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2005.08.002
34. Perkin-Veazie P. 1995. Growth and ripening of strawberry fruit. Horticultural Reviews 17:267–297. https://doi.org/10.1002/9780470650585.ch8.
35. Salvador A., Arnal L., Monterde A., and Cuquerella J. 2004. Reduction of chilling injury symptoms in persimmon fruit cv. Rojo brillante by 1-MCP. Postharvest Biology and Technology 33: 285-291. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2004.03.005.
36. Schon K. 1935. I. The carotenoids of Diospyros fruits. II. The carotenoids of arbutus fruits Arbutus unedo. Biochemical Journal 29-1779. https://doi.org/10.1042/bj0291779.
37. Singh S., and Pal R. 2008. Response of climacteric-type guava (*Psidium guajava* L.) to postharvest treatment with 1-MCP. Postharvest Biology and Technology, 47(3): 307-314. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.08.010.
38. Singleton V.L., and Rossi J.A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture 16: 144-158.
39. Sogvar O., Saba M., and Emamifar A. 2016. *Aloe vera* and ascorbic acid coatings maintain postharvest quality and reduce microbial load of strawberry fruit. Postharvest Biology and Technology 114: 29-35. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.11.019.
40. Sun D., Liang G., Xie J., Lei X., and Mo Y. 2010. Improved preservation effects of litchi fruit by combining chitosan coating with ascorbic acid treatment during postharvest storage. African Journal of Biotechnology 9(22): 3272-3279.
41. Suzuki T., Someya S., Hu F., and Tanokura M. 2005. Comparative study of catechin compositions in five Japanese persimmons (*Diospyros kaki*). Food Chemistry 93:149–52. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.10.017.
42. Taira S., Ono M., and Matsumoto N. 1997. Reduction of persimmon astringency by complex formation between pectin and tannin. Postharvest Biology and Technology 12: 265-271. https://www.cabi.org/isc/abstract/19980301673.
43. Taira S. 1996. Linskens, H. F. and Jackson, J. F (Eds). Astringency in persimmon. In: "Modern Method of Plant Analysis, Fruit Analysis". Springer-Verlang, Berlin 97-110. https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-642-79660-9_6.
44. Tajkarimi M., and Ibrahim S.A. 2011. Antimicrobial activity of ascorbic acid alone or in combination with lactic acid on Escherichia Coli O157: H7 in laboratory medium and carrot juice. Food Control 22: 801–804. https://www.scirp.org/related/RelatedArticles.aspx?SPID=6692545.
45. Tapia M.S., Rojas-Graü M.A., Carmona, A., Rodríguez F.J., Soliva-Fortuny R., and MartinBelloso O. 2008. Use of alginate- and gellan-based coatings for improving barrier, texture and nutritional properties of fresh-cut papaya. Food Hydrocool 22: 1493–1503. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2007.10.004.
46. Toledo M.E., Ueda Y., Imahori Y., and Ayaki M. 2003. L-Ascorbic acid metabolism in spinach (*Spinacia oleracea* L.) during postharvest storage in light and dark. Postharvest Biology and Technology 28: 47–57. https://doi.org/10.1016/S0925-5214(02)00121-7.
47. Turmanidze T., Jgenti M., Gulua L., and Shaiashvili V. 2017. Effect of ascorbic acid treatment on some quality parameters of frozen strawberry and raspberry fruits. Annals of Agrarian Science 217: 1-5. https://doi.org/10.1016/j.aasci.2017.02.017.
48. Vinson J.A., Su X., Zubik L., and Bose P. 2001. Phenol antioxidant quantity and quality in foods: fruits Journal of Agricultural Food Chemistry 49: 5315–5321.
49. Wang L., Chen S., Kong W., Li S., and Archbold D.D. 2006. Salicylic acid pretreatment alleviates chilling injury and affects the antioxidant system and heat shock protein of peaches during cold storage. Postharvest Biology and Technology 41: 224-251. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2006.04.010.
50. Xing Y., Li X., Xu Q., Jiang Y., Yun J., and Li W. 2010. Effects of chitosan-based coating and modified

atmosphere packaging (MAP) on browning and shelf life of fresh-cut lotus root (*Nelumbo nucifera* Gaerth). Innovative Food Science and Emerging Technologies 11(4): 684-689. https://doi.org/10.1016/j.ifset.2010.07.006.

51. Zhao-liang L., Young-Bing Y., Cheng-lian L., Zong-Xun C., and Tsung-Hsum T. 1998. Regulation of antioxidant enzymes by salicylic acid in cucumber leaves. Acta Botanica Sinica 40: 356-36.
52. Zhao D.Y., Shen L., Fan B., Liu K.L., Yu M.M., Zheng Y., Ding Y., Sheng J.P. 2009. Physiological and genetic properties of tomato fruits from 2 cultivars differing in chilling tolerance at cold storage. Food Chemistry 74: 348-352. https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01156.x.
53. Zhang Z., Huber D. J., Qu H., Yun Z.E., Wang H., Huang Z., Huang H., and Jiang Y. 2015. Enzymatic browning and antioxidant activities in harvested litchi fruit as influenced by apple polyphenols. Food Chemistry 171: 191–199. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.001.

Journal of Horticultural Science
https:// jhs.um.ac.ir

Research Article
Vol. 36, No. 1, Spring 2022, p. 259-269

Canonical Correlation between Morphological and Phytochemical Characteristics of Five Varieties of *Phalaenopsis* Orchids

F. Bidarnamani[1*], S.N. Mortazavi[2], Y. Shiri[3]

Received: 19-04-2021
Revised: 02-05-2021
Accepted: 15-06-2021
Available Online: 20-06-2022

How to cite this article:
Bidarnamani F., Mortazavi S.N., and Shiri Y. 2022. Canonical Correlation between Morphological and Phytochemical Characteristics of Five Varieties of *Phalaenopsis* Orchids. Journal of Horticultural Science 36(1): 259-269. (In Persian with English Abstract)
DOI: 10.22067/JHS.2021.69819.1042

Introduction

Phalaenopsis is one of the beautiful and commercial species of orchid family that there is little research on its medicinal properties. Phalaenopsis orchids can be grown outdoors in warm, humid conditions that are damp but not wet, in a location that is shady but bright. Since the introduction of orchid meristem culture in 1960, branching in micro-propagation methods develop based on using two clearly different culture schemes. It have been used from medicinal properties of orchids for anti-rheumatic, anti-inflammatory, anti-viral, anti-cancer, anti-seizure, diuretic, nutrient protection, relaxation, anti-aging, wound healing, hypoglycemia, anti-tumor, antimicrobial, antibacterial, anti-oxidants and anti-diarrhea.

Material and Methods

The purpose of this study was to evaluate the canonical correlation between morphological and phytochemical characteristics of five *phalaenopsis* orchid varieties: Nottingham, Bucharest, Andorra, Memphis, and Dubrovnik. Micro-propagation of orchid seeds was performed after sterilization of capsules by bleach and ethanol. Leaf and root organs of 5 orchid varieties were harvested from Chen medium in Institute of Agricultural Research, University of Zabol, on 2020. The sliced samples were dried in an oven at 50 °C for 72 hours, after separating the leaves and roots of each variety. The powdered leaves and roots of each variety (5 g) were separately immersed in 50 ml of ethanol for 24 hours at room temperature. Then the extracts were placed on a shaker at room temperature at 120 rpm.

Result and Discussion

The results showed that the first two canonical variables were significant and third variable was not significant. The first canonical variable has the highest special value of 65.83 and the second and third canonical variables have 4.59 and 0.10 special values, respectively. According to this research the first canonical variable with the highest special values, square of canonical correlation and the most cumulative percentages should be studied in all morphological and phytochemical characteristics. Significant canonical correlation in morphological characteristics fit 94% of the total variance of physiological variables, while significant canonical variables in phytochemical characteristics fit 100% of the variance of phytochemical characteristics. Due to the fact that phalaenopsis orchid flower has many leaf and root wastes, the findings of this study show that due to the medicinal properties of this plant, we can reduce the waste of this plant in greenhouses and production centers of this flower. In this study, the amount of phenol, flavonoid and antioxidants were determined. Also the relationship between morphological and phytochemical traits showed that this plant has medicinal properties. The lowest number of leaves belongs to Memphis variety and the highest number of leaves belongs to Nottingham variety, among the studied varieties. Therefore, it can be concluded that the roots are longer and

1- Assistant Professor, Institute of Agricultural Research, University of Zabol, Zabol, Iran
(*- Corresponding Author Email: f.bidarnamani65@uoz.ac.ir)
2- Associate Professor, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran
3- Assistant Professor, Institute of Agricultural Research, University of Zabol, Zabol, Iran

shorter in orchid varieties with white (Nottingham) and purple (Memphis) flower respectively. Also, the second focal variable of root trait with the highest coefficient had a negative correlation with the number of leaves and root length, which shows that in the second correlation of the number of leaves and root length, the number of roots will decrease. In the second focal variable, the number of roots had a positive focal correlation with leaf length. That is, the closer we get to the second center of correlations between morphological traits, the more direct and positive becomes the relationship between root number and leaf length traits.

Conclusion

According to the results and high percentage of fitness in phytochemical characteristics, it can be concluded that phytochemical traits can more precisely express the correlation between the traits. Also it showed significance of canonical correlation between two variable groups, the relationship between phytochemical and morphological traits of five varieties of *phalaenopsis* orchid. In general, the results of this study showed orchid varieties have high phenolic and flavonoid compounds and have the highest restraint power of free radical in canonical correlation, and they can be used as medicine. In this study, it was found that Phalaenopsis orchid varieties had phenolic content and good antioxidant capacity relatively and there was a high positive correlation between morphological and phytochemical traits and enhanced with adding the plant's length or number of leaves containing phytochemical compounds. Also, according to the results of this study and similar findings in other research, it was found that the production of secondary metabolites of orchids and other plants under the influence of genetic and environmental conditions can affect the production and amounts of chemical compounds and medicinal performance of plants.

Keywords: Medicinal traits, Phenol, Secondary metabolite, Morphology

نشریه علوم باغبانی
https:// jhs.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۶، شماره ۱، بهار ۱۴۰۱، ص ۲۶۹-۲۵۹

همبستگی کانونی صفات مورفولوژی و فیتوشیمیایی پنج رقم ارکیده فالانوپسیس

فاطمه بیدرنامنی[۱*]- سید نجم الدین مرتضوی[۲]- یعثوب شیری[۳]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۱/۳۰
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۳/۲۵

چکیده

ارکیده فالانوپسیس یکی از گونه‌های زیبا و تجاری از خانواده ارکیده بوده و تحقیقات در زمینه خواص دارویی آن اندک است. این تحقیق با هدف ارزیابی همبستگی کانونی صفات ریخت‌شناسی و فیتوشیمیایی پنج رقم ارکیده فالانوپسیس شامل 'Dubrovnik'، 'Memphis'، 'Andorra'، 'Bucharest' و 'Nottingham' انجام شد. اندام‌های برگ و ریشه حاصل از کشت بافت بذر ۵ رقم ارکیده در محیط کشت Chen در پژوهشکده کشاورزی دانشگاه زابل در سال ۱۳۹۹ برداشت شد. فاکتورهای تعداد ریشه، طول ریشه، تعداد برگ و طول برگ اندازه‌گیری شد. پس از تهیه عصاره اتانولی برگ و ریشه میزان فنول کل، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی اکسیدانی و در نهایت همبستگی کانونی بین صفات مورفولوژی و فیتوشیمیایی محاسبه شد. نتایج نشان داد که دو متغیر کانونی اول معنی‌دار می‌باشد و متغیر سوم معنی‌دار نشد. اولین متغیر کانونی دارای بیشترین مقدار ویژه ۶۵/۸۳ است و متغیر دوم و سوم کانونی به ترتیب دارای ۴/۵۹ و ۰/۱۰ مقادیر ویژه است. با توجه به نتایج این تحقیق، متغیر کانونی اول با بالاترین مقادیر ویژه، مربع همبستگی کانونی و بیشترین درصد تجمعی باید در تمام صفات ریخت‌شناسی و فیتوشیمیایی مورد بررسی قرار گیرد. متغیرهای کانونی معنی‌دار در صفات ریخت شناسی، ۹۴ درصد از واریانس کل متغیرهای فیزیولوژیک را برازش می‌کند. در حالی که متغیرهای کانونی معنی‌دار در صفات فیتوشیمیایی ۱۰۰ درصد از واریانس صفات فیتوشیمیایی را برازش می‌کند. با توجه به نتایج به دست آمده و درصد بالای برازش در صفات فیتوشیمیایی می‌توان نتیجه گرفت صفات فیتوشیمیایی می‌توانند با دقت بیشتری همبستگی بین صفات را بیان کنند. همچنین معنی‌داری همبستگی کانونی بین دو گروه متغیر، ارتباط بین صفات فیتوشیمیایی و ریخت‌شناسی پنج رقم ارکیده فالانوپسیس را نشان داد. به طورکلی آنالیز نتایج این تحقیق نشان داد ارقام ارکیده دارای ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی بالایی بوده و بالاترین قدرت مهار رادیکال‌های آزاد را در همبستگی کانونی داشته‌اند، می‌توان از آن‌ها به عنوان دارو استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: خاصیت دارویی، فنول، متابولیت ثانویه، مورفولوژی

مقدمه

تولید متابولیت‌های ثانویه به عنوان بخشی از سیستم دفاعی گیاه می‌باشد، علاوه بر آن بخش‌های مهمی از کیفیت غذای انسان مانند رنگ، بو و طعم را نیز مشخص می‌کند. برخی از متابولیت‌های ثانویه نظیر رنگدانه‌های گیاهی برای تنوع گل‌ها و گیاهان زینتی مهم است و تعدادی از این متابولیت‌ها برای تولید داروها، حشره‌کش‌ها، ادویه‌ها، رنگ‌ها و خوشبوکننده‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند (Rao and Ravishankar, 2002). ترکیبات فنلی در بین متابولیت‌های ثانویه گیاهی، به طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته‌اند و معمولا به عنوان آنتی اکسیدان کاربردهای فراوانی دارند (De La Torre and Albericio, 2020). تجزیه تشخیص کانونی یکی از روش‌های آماری چندمتغیره است که همه صفات به‌طور همزمان در تفاوت بین ارقام مورد بررسی قرار می‌گیرند، این روش مقایسه بسیار قوی از جمعیت‌ها را نسبت به آنچه از تجزیه تک متغیره بدست می‌آید فراهم می‌سازد (Yeater *et al.*, 2004). تجزیه تشخیص کانونی می‌تواند اثرهای بین جمعیت‌ها را از اثرهای درون جمعیت‌ها به وسیله حداکثر کردن تشخیص بین جمعیت ها زمانی‌که در مقابل تنوع درون جمعیت‌ها آزمون می‌شود جدا کند (Riggs, 1973). نتایج تحقیقی بر

۱- استادیار پژوهشکده کشاورزی، پژوهشگاه زابل، دانشگاه زابل، زابل، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: f.bidarnamani65@uoz.ac.ir)
۲ - دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران
۳- استادیار پژوهشکده کشاورزی، پژوهشگاه زابل، دانشگاه زابل، زابل، ایران
DOI: 10.22067/JHS.2021.69819.1042

روی تأثیر عصاره آبی و اتانولی گیاه سماق نشان داد مقدار فنول و فلاونوئید کل در عصاره آبی بالاتر از عصاره اتانولی بود و عصاره آبی سماق فعالیت آنتی اکسیدانی و مهار رادیکالی موثرتری نسبت به عصاره اتانولی داشت (Bursal and Koksal, 2011).

گونه‌ی *Phalaenopsis* spp. از نظر تجاری و اقتصادی جزو مهمترین ارکیده‌ها بوده و قسمت‌های گیاهی آن اغلب بدون استفاده مانده و سبب آلودگی محیط می گردد. تاکنون گزارش‌های مربوط به آنالیزهای فیتوشیمیایی معمولا در مورد ارکیده‌های در معرض خطر انقراض و دارویی وجود داشت؛ در گزارشی محققین پیشنهاد دادند عصاره ریشه هیبرید فالانوپسیس می‌تواند منبع مناسبی از آنتی اکسیدانت‌های طبیعی باشد؛ بنابراین می‌توان از ضایعات این گیاه در تولید صنعتی با اهداف دارویی استفاده کرد (Minh *et al.*, 2016). چندین ترکیب شیمیایی با اهمیت دارویی مانند آلکالوئیدها، پلی فنول‌ها، آنتوسیانین‌ها و کاروتنوئیدها در بافت‌های نمویافته در شرایط درون‌شیشه‌ای سنتز می‌شوند (Bhattacharjee *et al.*, 2015). به‌تازگی مطالعات بر تولید پروتوکورم و کالوس برای استخراج ترکیبات بیواکتیو در شرایط کشت درون‌شیشه‌ای از طریق سوسپانسیون و بیورآکتور متمرکز شده است (Pant *et al.*, Pant *et al.*, 2014 ; 2019). در مطالعه‌ای ترکیبات شیمیایی و آنالیزهای بیوشیمیایی، فعالیت اکسیدانی برگ‌ها و گل‌های ارکیده فالانوپسیس و ترکیبات شیمیایی و خصوصیات ضدرادیکالی *Dendrobium speciosum* ارزیابی شد (Ling and Subramaniam, 2007). در مطالعه‌ای که بر روی عصاره و برگ گل‌های هیبریدی فالانوپسیس انجام شد، نتایج نشان داد که عصاره برگ هیبرید Chian Xen Queen حاوی بالاترین فنول کل ۱۱/۵۲ میلی‌گرم و بالاترین فلاونویید کل ۴/۹۸ میلی‌گرم بود؛ همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ی ریشه بیشتر از برگ بود (Minh *et al.*, 2016). در مطالعه‌ای دیگر نتایج نشان داد پروتوکورم‌های حاصل از کشت بافت بذر ارکیده دندروبیوم، متابولیت‌های ثانویه بیواکتیو را سنتز کرده‌اند، بنابراین، می‌توان از پروتوکورم‌ها برای جداسازی ترکیبات برای فرموله‌کردن داروهای گیاهی بدون آسیب رساندن به جمعیت طبیعی آن گیاه است (Paudel et al., 2020). محققین گزارش کردند عصاره متانولی ارکیده‌های وحشی خاصی در نپال به‌ویژه *D. transparens* و *V. cristata* دارای فعالیت سمیت سلولی معنی‌داری در مقابل سرطان دهانه رحم و سلول‌های تومور مغزی داشتند. عصاره ارکیده حاوی ترکیبات ضد سرطانی و آنتی اکسیدانتی مفید بوده و می تواند منجر به تولید داروهای باارزش شود (De La Torre and Albericio, 2020). ارکیده‌ها به عنوان داروهای آیورودا در هندوستان استفاده می‌گردد (Kala and Senthilkumar, 2010). کوئرسیتین و فرولیک اسید آنتی اکسیدان‌های موجود در ارکیده هستند. مصرف آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مانند کوئرسیتین و اسید فرولیک از سلول‌های اسپرم در برابر تنش‌های اکسیداتیو محافظت کرده و سبب بهبود باروری می‌گردد (Yang *et al.*, 2006). در مطالعه اقلیما و همکاران بر روی همبستگی کانونی صفات مورفولوژی و فیزیولوژی ۲۲ جمعیت مختلف شیرین‌بیان نتایج نشان داد در تجزیه و تشخیص کانونی دو متغیر کانونی اول معنی‌دار بودند، هر متغیر کانونی، ترکیب خطی مجموعه متغیرهای پیش‌بینی‌کننده و متغیرهای مجموعه اندازه‌گیری‌شده را محاسبه می‌کند (Eghlima *et al.*, 2019).

هدف از این مطالعه، بررسی همبستگی کانونی بین صفات ریخت‌شناسی و فیتوشیمیایی عصاره اتانولی برگ و ریشه به منظور تعیین رابطه کانونی بین این صفات می‌باشد. معادلات به دست آمده از رابطه کانونی بین صفات ریخت‌شناسی می‌توانند الگویی برای ارزیابی هر صفت ریخت‌شناسی در صفات فیتوشیمیایی باشد.

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه‌گیاهی

پنج رقم ارکیده فالانوپسیس شامل 'Dubrovnik' با گل زرد، 'Memphis' با گل بنفش، 'Andorra' با گل بنفش خال‌خالی، 'Bucharest' با گل بنفش راه راه و 'Nottingham' با گل سفید از گلخانه‌ای در پاکدشت تهیه شد (شکل ۱). ساقه گل‌دهنده دارای چند غنچه و چند گل بود. گلدان‌ها در گلخانه پژوهشکده کشاورزی دانشگاه زابل در دمای حدود ۱۷ درجه سانتی‌گراد شبانه و ۲۹ درجه روزانه نگهداری شدند. در آذرماه ۱۳۹۸ گرده افشانی گل‌ها با استفاده از سرنگ گرده افشانی ارکیده که در اداره ثبت اختراعات و سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران ثبت شده است (شماره ثبت اختراع ۰۰۳۶۹۵) انجام شد (شکل ۲). بسته به نوع رقم مدت زمان موردنیاز برای تشکیل کپسول پس از گرده‌افشانی حدود ۱۵۰-۱۲۰ روز بوده است. پس از رسیدن کپسول‌ها، و شستشو و ضدعفونی طی مراحل مختلف با وایتکس و سپس اتانول، بذور ارکیده در محیط Chen کشت شد. تمام شیشه‌های کشت بافتی در اتاقک رشد با دمای ۲±۲۴ درجه سانتی‌گراد زیر نور سفید فلورسنت (۵۶ میکرو مول بر متر مربع بر ثانیه) با دوره نوری۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار داده شد (Bidarnamani *et al.*, 2020). ۶ ماه پس از کشت، نمونه‌ها از شیشه خارج شدند. پس از جداسازی برگ و ریشه هر رقم، نمونه‌ها قطعه قطعه شده در آون با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت خشک شد.

شکل ۱- ارقام ارکیده فالانوپسیس
Figure 1- Varieties of Orchid Phalaenopsis

شکل ۲- سرنگ تلقیح ارکیده به شماره ثبت اختراع ۰۰۳۶۹۵
Figure 2- Orchid pollination Syringa with patent number 003695

تهیه عصاره اتانولی

برگ‌ها و ریشه‌های پودر شده هر رقم (۵ گرم) به طور جداگانه در ۵۰ میلی‌لیتر اتانول به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق غوطه‌ور شدند. سپس عصاره‌ها در دمای معمولی اتاق بر روی شیکر با سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه قرار داده شد. پس از آن عصاره‌ها با کاغذ صافی واتمن شماره یک فیلتر شد و عصاره حاصل در یخچال دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (Firouzkuhi *et al.*, 2018).

سنجش میزان فنل کل

ترکیب‌های فنلی در عصاره اتانولی گیاهی به روش نیل و پارک (Nile and Park, 2013) اندازه‌گیری شد و نتایج براساس میلی‌گرم گالیک اسید در هر گرم عصاره اتانولی مشخص شد. بر این اساس مقدار ۲۰۰ میکرولیتر از عصاره‌ها با غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در لوله‌های آزمایش ریخته شد. ۴۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیوکالتو و ۴۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم ۷ درصد به مخلوط اضافه گردید. پس از ۳۰ دقیقه که در دمای محیط مخلوط نگهداری شد، میزان جذب نوری مخلوط توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. مقدار جذب عصاره در معادله خطی مربوط به منحنی استاندارد گالیک اسید قرار داده شده و مقدار فنل کل محاسبه گردید. واحد میزان فنل کل معادل میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم عصاره می‌باشد (Nile and Park, 2013).

معادله (۱) $Y=0.002X+0.014$

Y: مقدار جذب ثبت شده در دستگاه اسپکتوفتومتر

X: میزان فنل کل با واحد ($mg\ GAE.g^{-1}$)

سنجش فلاونوئید کل

مقادیر فلاونوئیدی عصاره‌های برگ و ریشه به روش رنگ‌سنجی آلومینیوم کلراید اندازه‌گیری شد. در این روش به ۵۰۰ میکرولیتر از محلول عصاره با ۱/۵ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد، ۱۰۰ میکرولیتر محلول آلومینیوم کلراید (۱۰ درصد)، ۱۰۰ میکرولیتر محلول استات پتاسیم یک مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه گردید. نمونه‌ها در دمای اتاق به مدت ۴۰ دقیقه انکوبه شدند و سپس جذب مخلوط در ۴۱۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. از کویرستین به منظور رسم منحنی استاندارد استفاده شد و نتایج بر حسب میلی‌گرم اکی والان کوئرستین (mg QE/g) در هر گرم عصاره مشخص شد (Dai and Mumper, 2010).

معادله (۲) $Y = 0.018 + 0.005X$

Y: مقدار جذب ثبت شده در دستگاه اسپکتوفتومتر

X: میزان فلاونوئید کل

سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدان

سنجش فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH[1] اینگونه بود که بر اساس تغییر رنگ محلول متانولی بنفش رنگ ۲ و ۲- دی فنیل-۱-پیکریل- هیدرازیل به محلول زرد رنگ دی فنیل - پیکریل هیدرازین می‌باشد. ۲۵۰ میکرولیتر از عصاره با ۷۵۰ میکرولیتر از محلول DPPH مخلوط شد. این نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در شرایط تاریکی و دمای اتاق انکوبه شد و سپس میزان جذب آن در طول موج ۵۱۷ نانومتر با دستگاه اسپکتوفتومتر مشخص شد (Barros *et al.*, 2007). درصد مهار رادیکال‌های آزاد با فرمول زیر محاسبه می شود.

معادله (۳) درصد مهار رادیکال‌های آزاد $=(A_C-A_S) \times 100$

1- 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl

A_C: میزان جذب برای نمونه شاهد

A_S: میزان جذب برای نمونه گیاهی

آنالیز آماری

آنالیز آماری داده‌ها بـه کمـک نـرم‌افـزار آمـاری SAS version 9.1.0 صـورت گرفـت. تعیـین تعـداد متغیرهـای کـانونی و انتخـاب همبستگی کـانونی مناسـب بـر مبنـای مقـادیر همبسـتگی کانونیـک تصـحیح شـده و آزمـون‌هـای Wilks' Lambda، Pillai's Trace، Hotelling-Lawley Trace و Roy's Greatest Root انجام شد.

نتایج تجزیه همبستگی کانونی

نتـایج تجزیـه همبسـتگی کـانونی صـفات ریخـت‌شناسـی و فیتوشیمیایی پنج رقم ارکیـده فالانوپسـیس نشـان داد کـه دو متغیـر کانونی اول معنی‌دار می‌باشد و متغیر سوم معنـی‌دار نشـد (جـدول ۱).

اولین متغیر کانونی دارای بیشترین مقدار ویـژه ۶۵/۸۳ اسـت و متغیـر دوم و سوم کانونی به ترتیب دارای ۴/۵۹ و ۰/۱۰ مقادیر ویـژه اسـت. نتایج این جدول نشان داد که متغیر کـانونی اول بـا بـالاترین مقـادیر ویژه، مربع همبستگی کانونی و بیشترین درصد تجمعی بایـد در تمـام صـفات ریخـت شناسـی و فیتوشـیمیایی مـورد بررسـی قـرار گیـرد. متغیرهای کانونی معنـی‌دار در صـفات ریخـت‌شناسـی، ۹۴ درصـد از واریانس کل متغیرهای فیزیولوژیک را برازش می‌کنـد. در حـالی کـه متغیرهـای کـانونی معنـی‌دار در صـفات فیتوشـیمیایی ۱۰۰ درصـد از واریانس صفات فیتوشیمیایی را برازش می‌کند. با توجه بـه نتـایج بـه دست آمده و درصد بالای برازش در صـفات فیتوشـیمایی مـی تـوان نتیجه گرفت که صفات فیتوشیمیایی با دقت بیشتری همبستگی بـین صفات را می‌توانند بیان کنند همچنین معنی‌داری همبسـتگی کـانونی بین دو گروه متغیر، ارتباط بین صفات فیتوشـیمیایی و ریخـت‌شناسـی پنج رقم ارکیده فالانوپسیس را نشان داد.

جدول ۱- همبستگی کانونی و سطح احتمال معنی‌دار بودن صفات فیتوشیمیایی و ریخت‌شناسی در ارقام ارکیده فالانوپسیس

Table 1- Canonical correlation and significant probability level of phytochemical and morphological characteristics of Orchid Phalaenopsis varieties

متغیر کانونی Canonical variable	همبستگی کانونی Canonical correlation	مربع همبستگی کانونی Square of canonical correlation	مقادیر ویژه Special values	درصد percentage	درصد تجمعی Accumulative percentage	سطح احتمال P value
1	0.99	0.98	65.83	93.34	93.34	0.0001
2	0.90	0.46	4.59	6.51	99.85	0.006
3	0.31	0.09	0.10	0.15	100	0.59

ضرایب همبستگی رابطه بین متغیرهای کانونی و متغیرهای اصلی را ارزیابی مـی‌کنـد کـه عمومـا ضـرایب سـاختاری گفتـه مـی‌شـوند (Eghlima *et al.*, 2019). برای بررسی این ارتباط، همبسـتگی بـین متغیرهای کانونی و متغیرهـای اصـلی در تجزیـه همبسـتگی کـانونی برای دو جفت متغیر کانونی اول مقایسه شد.

اولین متغیر کانونی صفات ریخت شناسی، ۸۷/۶۵ درصد از داده‌ها را برازش می‌کند. بالاترین ضریب همبستگی کـانونی اول در صـفات ریخت شناسی مربوط به طول ریشه (r=۰/۹۶) و در همبستگی کانونی دوم مربوط به تعداد ریشه می‌باشـد. اولـین متغیـر کـانونی در صـفات ریخت‌شناسی با صفات تعداد برگ، تعـداد ریشـه، طـول بـرگ، طـول ریشه و طول برگ همبستگی مثبت داشت. بنابراین نتیجه مـی‌گیـریم هر چه به سمت کانون اول همبستگی‌ها نزدیک می‌شویم افزایش هر یک از صفات مورد مطالعه سبب افزایش سایر صفات می‌شود. در ارقام مورد مطالعه، کمتـرین تعـداد بـرگ مربـوط بـه رقـم ‘Memphis’ و بیشترین تعداد برگ مربوط به رقـم ‘Nottingham’ اسـت. بنـابراین می‌توان نتیجه گرفت که در ارقام ارکیده با گل سفید طول ریشه‌ها در کشـت درون شیشـه‌ای بیشـتر و در ارقـام ارکیـده بـا گـل بـنفش (‘Memphis’) طول ریشه‌هـا کمتـر اسـت. همچنـین دومـین متغیـر کانونی صفت تعداد ریشه با بیشترین ضریب با صـفت تعـداد بـرگ و طول ریشه همبستگی منفی داشت که نشان مـی‌دهـد در کـانون دوم همبستگی‌ها هر چه تعداد برگ و طول ریشه بیشتر شود تعـداد ریشـه کمتر خواهد شد. در دومین متغیر کانونی صفت تعداد ریشـه بـا طـول برگ همبستگی کانونی مثبت داشت. یعنی هر چه بـه سـمت کـانون دوم همبستگی‌های بین صفات ریخت‌شناسی نزدیک می‌شویم رابطـه بین صفات تعداد ریشه و طول برگ مستقیم و مثبت می‌شود. از نتایج به دست آمده می‌تـوان نتیجـه گرفـت کـه متغیـر کـانونی اول بهتـر می‌تواند همبستگی بین صفات ریخت‌شناسی را برازش کند.

اولین متغیر کانونی صفات فیتوشیمیایی، ۹۵/۳۶ درصد از داده‌ها را برازش می‌کند (جدول ۳). بالاترین ضریب همبستگی کـانونی اول در صفات فیتوشیمیایی مربوط به میزان آنتـی اکسـیدانت (r=۰/۹۷۹۳) و در همبستگی کانونی دوم مربوط به میزان فنل می‌باشد. اولـین متغیـر کانونی در صفات فیتوشیمیایی با صفات تعداد میزان فنل، فلاونویید و آنتی اکسیدانت همبستگی مثبت داشت.

جدول ۲- همبستگی کانونی صفات ریخت‌شناسی ارقام ارکیده فالانوپسیس با دو متغیر کانونی معنی‌دار ریخت‌شناسی

Table 2- Canonical correlation of morphological traits of Orchid Phalaenopsis varieties with two morphological significant canonical variables

صفات ریخت‌شناسی Morphological traits	متغیرهای کانونی Canonical variables	
	کانونی اول First canon	کانونی دوم Second canon
تعداد ریشه Number of roots	0.91	0.27
تعداد برگ Number of leaves	0.92	-0.11
طول برگ Leaf length	0.95	0.09
طول ریشه Root length	0.96	-0.25
واریانس متغیر کانونی Variance of canonical variables	87.65	6.12

بنابراین نتیجه می‌گیریم هر چه به سمت کانون اول همبستگی‌ها نزدیک می‌شویم افزایش هر یک از صفات مورد مطالعه سبب افزایش سایر صفات می‌شود. در ارقام مورد مطالعه، کمترین میزان فلاونویید مربوط به رقم 'Memphis' و بیشترین میزان فلاونویید مربوط به رقم 'Nottingham' است. همچنین در دومین متغیر کانونی صفت میزان فنل کل با بیشترین ضریب با صفت میزان فلاونویید و آنتی اکسیدانت همبستگی منفی داشت که نشان می دهد در کانون دوم همبستگی ها هر چه میزان فنل اندام هوایی برگ بیشتر شود میزان فلاونویید و آنتی‌اکسیدانت کمتر خواهد شد. در دومین متغیر کانونی صفات میزان فلاونویید و آنتی اکسیدانت ها با متغیر کانونی دوم همبستگی کانونی مثبت داشت. یعنی هر چه به سمت کانون دوم همبستگی‌های بین صفات فیتوشیمیایی نزدیک می شویم رابطه بین صفات میزان فلاونویید و آنتی اکسیدانت‌ها با کانون دوم همبستگی مستقیم و مثبت می شود. از نتایج به دست آمده می‌توان نتیجه گرفت که متغیر کانونی اول بهتر می‌تواند همبستگی بین صفات فیتوشیمیایی را برازش کند.

جدول۳- همبستگی کانونی صفات فیتوشیمیایی ارقام ارکیده فالانوپسیس با دو متغیر کانونی معنی‌دار فیتوشیمیایی

Table 3- Canonical correlation of phytochemical traits of Orchid Phalaenopsis varieties with two significant phytochemical canonical variables

صفات فیتوشیمیایی Phytochemical traits	متغیرهای کانونی Canonical variables	
	کانونی اول First canon	کانونی دوم Second canon
میزان فنل کل Content of total phenol	0.97	−0.22
میزان فلاونویید Content of flavonoid	0.97	0.13
فعالیت آنتی اکسیدانی Antioxidant activity	0.97	0.19
واریانس متغیر کانونی Variance of canonical variables	95.36	3.48

نتایج جدول ۴ برای بررسی معادلات متغیرهای کانونی استاندارد شده نشان داد که متغیرهای کانونی اول به عنوان مهمترین متغیر برای بررسی همبستگی بین صفات فیتوشیمیایی و ریخت‌شناسی ۵ رقم ارکیده فالانوپسیس مناسب است و پس از آن معادلات دوم و سوم می‌توانند با متغیرهای مختلف برای تعیین میزان همبستگی کانونی این صفات مورد توجه قرار گیردند. با بررسی معادله MOR_1 به نظر می‌رسد که MOR_1 عبارت از معادله‌ای که برای مقایسه‌ی X_1 (تعداد ریشه) با سایر متغیرهای X به کار می رود. پس MOR_1

نشان‌دهنده تعداد ریشه پنج رقم ارکیده فالانوپسیس می‌باشد. از طرف دیگر، $PHTY_1$ دارای ضریب بزرگ مثبت برای هر سه متغیر فیتوشیمیایی می‌باشد. به نظر می‌رسد که ظاهرا ارقام با تعداد ریشه بالا دارای بیشترین ترکیبات فنلی، فلانوئیدی و آنتی اکسیدانی می‌باشد. در همبستگی کانونی دوم ظاهرا کمی معادله پیچیده تر می‌شود و MOR_2 عبارت است از معادله ای که برای مقایسه X_2 با سایر متغیرهای X به کار می‌رود. پس X_2 نشان‌دهنده تعداد برگ کمتر در ۵ رقم ارکیده فالانوپسیس می‌باشد و از طرفی $PHTY_2$ دارای ضریب مثبت بزرگ برای Y_3 (مقادیر آنتی اکسیدانت) و ضریب منفی برای Y_1 (میزان فنل کل) می‌باشد. با توجه به همبستگی کانونی دوم می توان نتیجه گرفت که ظاهرا ارقام داری تعداد برگ کمتر میزان فنل کمتر و میزان آنتی‌اکسیدانت بیشتری دارند.

جدول ۴- معادلات متغیرهای کانونی استاندارد شده

Table 4- Equations of standard canonical variables

معادله Equation	فرمول Formula
MOR_1	$+0.91X_1+0.92X_2+0.95X_3+0.96X_4$
$PHTY_1$	$+0.97Y_1+0.97Y_2+0.97Y_3$
MOR_2	$+0.27X_1-0.11X_2+0.09X_3-0.25X_4$
$PHTY_2$	$-0.20Y_1+0.11Y_2+0.17Y_3$

نتایج جدول ۵ برای بررسی آزمون‌های معنی‌داری همبستگی کانونی صفات فیزیولوژیک تلقیح نشان داد که بیشترین مقادیر ویژه برای آزمون همبستگی با روش Hotelling-Lawley Trace می‌باشد. مقادیر ویژه برای آزمون‌های دیگر همبستگی Wilks' Lambda برابر ۰/۰۰۴، Pillai's Trace برابر با ۱/۹۰ و آزمون آماری Roy's Greatest Root برابر با ۶۵/۸۳ می‌باشد. در تمام آزمون‌های آماری مورد اشاره همبستگی کانونی برای صفات فیزیولوژیک و ریخت شناسی‌معنی‌دار شد.

جدول ۵- آزمون‌های معنی‌داری همبستگی کانونی برای صفات فیتوشیمیایی و ریخت‌شناسی ارقام ارکیده فالانوپسیس

Table 5- Significant tests of canonical correlations for phytochemical and morphological traits of Orchid Phalaenopsis varieties

آزمون‌ها Tests	مقادیر ویژه Special values	F	درجه‌آزادی Freedom degree	P value
Wilks' Lambda	0.002	15.66	12	<0.0001
Pillai's Trace	1.90	4.34	12	0.0005
Hotelling-Lawley Trace	70.53	43.75	12	<0.0001
Roy's Greatest Root	65.83	164.59	4	0.0001

بحث

ترکیبات فنلی بخش اعظمی از رژیم غذایی انسان را تشکیل می‌دهند و بیشترین سودمندی آنها در خاصیت ضدسرطانی و آنتی اکسیدانی آنهاست (Dai and Mumper, 2010). فلاونوئیدها و دیگر ترکیبات فنلی گیاه مانند اسیدهای فنلی، استیلین، تانن‌ها، لیگنان‌ها و لیگنین‌ها معمولا در برگ‌ها و بخش‌های چوبی مانند ساقه و شاخه وجود دارند. این ترکیبات به صورت مستقیم باعث مهار مولکول‌های فعال سوپراکسید، پراکسید هیدروژن، رادیکال‌های هیدروکسیل و پراکسیل می‌گردند؛ همچنین گزارش شده است که گیاهان حاوی ترکیبات فلاونوئیدی هستند و فعالیت آنتی اکسیدانی بالایی دارند (Sharma *et al.*, 2012). از خواص دارویی ارکیده‌ها به اثر ضد روماتیسم، ضد التهاب، ضد ویروس، ضد سرطان، ضد تشنج، ادرارآور، محافظت از مواد مغذی، آرامش، ضد پیری، ترمیم زخم، کاهش قند خون، ضد تومور، ضد میکروب، ضد باکتری، آنتی اکسیدان و ضد اسهال آن ها اشاره شده است (Moin *et al.*, 2012; Rokaya *et al.*, 2014; Dalara *et al.*, 2015; Bhattacharjee *et al.*, 2014; Ghanaksh and Kushiak, 1999; Bijaya, 2013; Islam *et al.*, 2013).

در مطالعات هم‌بستگی کانونی بین صفات مورفولوژی و فیتوشیمیایی، ارتباط ساختاری همبستگی‌ها نتایج متفاوتی را نسبت به ضرایب کانونی استانداردشده ارائه می‌دهند. این نتایج متفاوت می‌تواند به علت پدیده همخطی بین داده‌ها و یا کوچک بودن اندازه نمونه باشد و می تواند سبب ناپایداری ضرایب کانونی شود. به‌طور کلی ارتباط معنی‌دار برخی از صفات مورفولوژیک مانند تعداد ریشه بالا با اجزای تشکیل دهنده فیتوشیمیایی حاکی از آن است که می‌توان در برنامه‌های اصلاحی از گزینش غیرمستقیم برای صفات مورفولوژیکی برای بهبود و اصلاح صفات کیفی و داروئی گل ارکیده فالانوپسیس استفاده کرد. اهمیت این مسئله با توجه به هزینه بالا و دشواری اندازه‌گیری مواد موثره داروئی مشخص می‌گردد.

مطالعه همبستگی کانونی بین صفات ریخت‌شناسی و فیتوشیمیایی بین پنج رقم ارکیده فالانوپسیس برای اولین بار مورد توجه قرار گرفته است. مطالعه بین ضرایب همبستگی کانونی صفات

ریخت شناسی در همبستگی کانونی اول نشان داد که با افزایش هر کدام از صفات ریخت‌شناسی (تعداد برگ، تعداد ریشه، طول برگ و طول ریشه) میزان ترکیبات فیتوشیمیایی مثل میزان فنل کل، فلاونوئید و آنتی اکسیدان ها افزایش یافت. در این مطالعه دو متغیر همبستگی کانونی اول و دوم به طور معنی‌داری صفات ریخت‌شناسی و فیتوشیمیایی را برازش کردند. نتایج این مطالعه مبنی بر معنی‌دار بودن دو همبستگی کانونی اول با نتایج سایر محققین مطابقت دارد (Bidarnamani *et al*., 2020; Eghlima *et al*., 2019).

با توجه به اینکه گل ارکیده فالانوپسیس دارای ضایعات برگ و ریشه فراوانی هست یافته‌های این تحقیق نشان می‌دهد که توجه به خاصیت دارویی این گیاه می‌تواند ضایعات این گیاه را در گلخانه‌ها و مراکز تولید این گل کاهش دهد. در این مطالعه مقدار فنل، فلاونوئید و آنتی اکسیدان‌ها تعیین شد و همچنین ارتباط بین صفات ریخت شناسی و فیتوشیمیایی نشان داد که این گیاه دارای خاصیت دارویی است.

نتایج این مطالعه نشان داد که میزان فعالیت ضد اکسیدانی عصاره گل ارکیده فالانوپسیس رابطه مستقیمی با میزان فنل دارد و در واقع می توان گفت فعالیت ضد اکسیدانی این گیاه مربوط به فنل در آن می‌باشد. در واقع ترکیبات فنلی به عنوان الکترون دهنده عمل می‌کنند و از ایجاد واکنش‌های اکسیداتیو توسط رادیکال‌های آزاد جلوگیری میکنند (Jamshidi *et al*., 2010). نتایج این مطالعه مربوط به همبستگی مثبت بین ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی با نتایج تحقیق شکراللهی و همکاران (Shokrollahi *et al*., 2018) ارتباط مستقیم دارد.

در مطالعه‌ای بر روی هم‌بستگی کانونی بین صفات مورفولوژیک و اسانس‌های گیاه فرنجمشک (*Melissa officinalis*) نتایج معادلات هم‌بستگی اول نشان داد ارتباط بالایی بین ترکیبات اسانس و صفات مورفولوژی وجود داشت که با هم‌بستگی بین ترکیبات geranial و citronellal مرتبط بود، طبق نتایج این محققین دو ترکیب اخیر که خصوصیات داروئی دارند به‌طور غیرمستقیم با خصوصیات مورفولوژیک افزایش می یابند (Talle *et al*., 2012). مطالعه اکبریان و همکاران (Akbarian *et al*., 2017) بر روی هم‌بستگی کانونی صفات فیتوشیمیایی و محیطی گیاه بیلهر (*Dorema aucheri*)، نتایج نشان داد ویژگی های محیطی از جمله ارتفاع و سیلتی بودن خاک و دما هم‌بستگی مثبتی با متغیر کانونی اول نشان دادند؛ متغیر کانونی دوم با فلاونوئید و کلروفیل b با ویژگی‌های اقلیمی از جمله خاک رسی و اسیدیته هم‌بستگی مثبت نشان داد. در مطالعه شکرپور و همکاران (Shokrpour *et al*., 2008) به ارتباط هم‌بستگی مثبت بین صفات مورفولوژیکی، فیتوشیمیایی و مولکولی در گیاه ماریتیغال اشاره شده است و نتایج نشان داد که دو متغیر کانونی اول و دوم دارای هم‌بستگی کانونی معنی‌داری بودند که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد.

نتیجه‌گیری

استفاده از ارکیده در طب سنتی در آسیا، آفریقا، خاورمیانه، آمریکا و اروپا مشاهده شد و خواص دارویی که برای گیاه در این کشورها بررسی شده است شامل درمان هیستری، آسم، جنون و صرع، بیماری‌های روماتیسم، سل، تب‌خال، اگزمای پوستی، اختلالات قلبی، تنفسی و عصبی می‌باشد. در این تحقیق مشخص شد که ارقام ارکیده فالانوپسیس از محتوای فنلی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نسبتا خوبی برخوردار است و بین صفات ریخت‌شناسی و فیتوشیمیایی همبستگی کانونی مثبت بالایی برقرار بود و با افزایش طول یا تعداد برگ محتوی ترکیبات فیتوشیمیایی افزایش یافت. همچنین با توجه به یافته‌های این مطالعه و یافته‌های مشابه در سایر محققین مشخص شد که تولید متابولیت‌های ثانویه گل ارکیده و سایر گیاهان تحت تاثیر شرایط ژنتیکی و محیطی بر تولید و مقادیر ترکیبات شیمیایی موجود و عملکرد دارویی گیاهان می‌تواند موثر باشد. با استفاده از نتایج هم‌بستگی بین صفات مورفولوژی و فیتوشیمیایی در گیاهان، اصلاح‌گران می‌توانند گیاهان با عملکرد رویشی بالاتر را به منظور رسیدن به عملکرد فیتوشیمیایی بیشتر انتخاب کنند.

سپاسگزاری

این مقاله با حمایت معاونت پژوهشی دانشگاه زابل با شماره گرنت IR-UOZ-GRANT-6918 انجام شده است.

منابع

1. Akbarian A., Rahim-malek M., Sabzalian M.R., and Saeidi G.H. 2017. Assessment of phytochemical, morphological and antioxidant variation of bilehar (*Dorema aucheri*) population cultivated in different environmental conditions. Journal of Medicinal Plants 16(62): 120-135. (In Persian with English abstract)
2. Barros L., Baptisia P., and Ferreira I.C.F.R. 2007. Effects of fruiting body maturity stage on antioxidant activity measured by several biochemical assays, *Lactarius piperatus*. Food and Chemical Toxicology 45(9):1731-1737. DOI: 10.1016/j.fct.2007.03.006.

3. Bhattacharjee B., Islam T., Rahman Z., and Islam S.M.S. 2015. Antimicrobial activity and phytochemical screening of whole plant extracts of *Vanda tessellata* (Roxb). Journal of Pharmaceutical Science 4: 72–83.
4. Bidarnamani F., Mortazai S.N., and Rahimi M. 2020. Study of correlation and cluster analysis of seed germination characteristic in 5 cultivars of phalaenopsis orchid in Chen medium. Flower and Ornamental Plants 4(2): 101-114. (In Persian with English abstract). DOI: 10.29252/flowerjournal.4.2.101.
5. Bijaya P. 2013. Medicinal orchids and their uses: Tissue culture a potential alternative for conservation. African Journal of Plant Science 7: 448–467. DOI: 10.5897/AJPS2013.10.
6. Bursal E., and Koksal E. 2011. Evaluation of reducing power and radical scavenging of water and ethanol extracts from sumac (*Rhus coriaria* L.). Food Research International 44: 2217-2221.
7. Dai J., and Mumper R.J. 2010. Plant phenolics extraction, analysis and their antioxidant and anti-cancer properties. Molecules 15: 7313-52. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.11.001.
8. De La Torre B.G., and Albericio F. 2020. The pharmaceutical industry in 2019. An analysis of FDA drug approvals from the prespective of molecoles. Mulecules 25(745): 1-13. DOI: 10.3390/molecules25030745.
9. Dalara A., Guoa Y., Esimd N., Bengue A.S., and Konczak I. 2015. Health attributes of an endemic orchid from Eastern Anatolia, Dactylorhiza chuhensis Renz & Taub In vitro investigations. Journal of Herbal Medecine 5: 77–85. https://doi.org/10.1016/j.hermed.2015.02.001.
10. Do Q.D., Angkawijaya A.E., Tran-Nguyen P.L., Huynh L.H., Soetaredjo F.E., Ismadji S., and Ju Y.H. 2014. Effect of extraction solvent on total phenol content totla falvonoid content and antioxident activity of *Limnophia aromatic*. Journal of Food and Drug Analysis 22: 296-302. DOI: 10.1016/j.jfda.2013.11.001.
11. Eghlima G.H., Kheiry A., Sanikhani M., Hadian J., and Alaaei M. 2019. Assessment of genetic variation and grouping of licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) population using canonical discriminant analysis. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 35(4): 677-690. In Persian with English abstract. (In Persian with English abstract). DOI: 10.22092/ijmapr.2019.125045.2486.
12. Firouzkuhi F., Esmailzadeh Bahabadi S., Mohkami Z., and Yosefzaei F. 2018. The effects of different solvents on total phenolic, Flavonoid contents and antioxidant activity of different organs of *momordica charantia* L., cultures in Sistan region. Journal of medicinal plants Ecophytochemistry 5(4):74-85. (In Persian with English abstract)
13. Ghanaksh A., and Kaushik P. 1999. Antibacterial effect of Aerides multiflora Roxb: A study in vitro. The Journal of Orchid Society of India 1: 65–68.
14. Islam M.S., Mehraj H., Roni M.Z.K., Shimasaki K., and Uddin A.F.M.J. 2013, Correlation between cane growth and flowering behavior of Dendrobium orchid cultivars. Journal of Bangladesh Academy Science 37: 205–209.
15. Jamshidi M. A., Ahmadi-Ashtiani H.R., Rezazadeh S.H., Fathiazad F., Mazandarani M.A., and Khaki A.R. 2010. Study on Phenolics and Antioxidant Activity of some Selected Plant of Mazandaran Province. Journal of Medicinal Plants (34): 177-82. (In Persian)
16. Kala S., and Senthilkumar S. 2010. Antimicrobial activity of Acanthephippi *Acanthephippium bicolor* Lindley. Malaysian Journal of Microbiology 6(2): 140-148.
17. Ling L.F., and Subramaniam S. 2007. Biochemical analysis of *phalaenopsis violacea* orcchis. Asian Journal of Biochemistry 2: 237-246. DOI: 10.3923/ajb.2007.237.246.
18. Minh T.N., Khangm D.T., Tuyen P.T., Minh L.T., Anh L.H., Quan N.V., Ha P.T.T., Quan N.T., Toan N.P., Elzaawely A.A., and Xuan T.D. 2016. Phenolic compounds and antioxidant activity of *phalaenopsis* orchid hybrids. Antioxidants 5(3): 31-42. DOI: 10.3390/antiox5030031.
19. Moin S., Sahaya B.S., Servin P.W., and Chitra B.D. 2012. Bioactive potential of *Coelogyne stricta* (D.Don) Schltr: An ornamental and medicinally important orchid. Journal of Pharmacological Research 5: 2191–2196.
20. Nile S.H., and Park S.W. 2013, Total phenolics, antioxidant and xanthine oxidase inhibitory activity of three colored onions (*Allium cepa* L.). Frontiers in Life Science 7: 224-228. https://doi.org/10.1080/21553769.2014.901926.
21. Pant B., Adhikari R., and Thapa S. 2014. Application of plant cell and tissue culture for the production of phytochemicals in medicinal plants. Application of Plant Cell and Tissue Culture 25-41. DOI: 10.1007/978-81-322-1774-9_3.
22. Pant B., Pradhan S., and Paudel M.R. 2019. Various culture techniques for the mass propagation of medicinal orchids from Nepal. Acta Horticulture 109-124. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2019.1262.16.
23. Paudel M.R., Joshi P.R., Chand K., Sah A.K., Acharya S., Pant B., and Pant B. 2020. Antioxident, anticancer and antimicrobial effects of in vitro developed protocorms of *Dendrobium longicornu*. Biotechnolgy Reports 28: 1-7. https://doi.org/10.1016/j.btre.2020.e00527.
24. Rao S.R., and Ravishankar G.A. 2002, Plant cell cultures: chemical factories of secondary metabolites. Biotechnology advances 20(2): 101-53. DOI: 10.1016/s0734-9750(02)00007-1.
25. Riggs T.J. 1973. The use of canonical analysis for for selection within a cultivar of spring barley. Annals of Applied Biology 74(2): 249-258.
26. Rokaya M.B., Uprety Y., Poudele R.C., Timsina B., Münzbergová Z., Asselind H., Tiwari A., Shresthac S.S., and Sigdeli S.R. 2014. Traditional uses of medicinal plants in gastrointestinal disorders in Nepal. Journal of

Ethnopharmacology 158:221–229. doi: 10.1016/j.jep.2014.10.014.
27. Sharma R., Samant S., Sharma P., and Devi S. 2012. Evaluation of antioxidant activities of *Withania somnifera* leaves growing in natural habitats of Northwest Himalaya India. Journal of Medicinal Plants Research 6(5): 657-661. DOI: 10.5897/JMPR11.257.
28. Shokrpour M., Mohammadi S.A., Moghaddam M., Ziai S.A., and Javanshir A. 2008, Analysis of morphologic association, phytochemical and AFLP markers in milk thistle (*Silybum marianum* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 24(3): 278-292. (In Persian with English Abstract)
29. Shokrollahi S.H., Heshmatii G.H., and Yosefzadeh H. 2018. Study the phenolic compounds and antioxidant activity of the extract lily (*Lilium ledebouri*) (Baker). Journal of Fasa University of Medical Sciences 8(2): 727-734. (In Persian with English Abstract)
30. Talle B., Darvish F., Mohammadi A., Abbaszadeh B., and Rohami M. 2012. Assessment of relationship between effective traits on yield and compounds of essential oil and morphological triats of Lemon Balm (*Melissa officinalis* L.) accessions using path analysis and canonical correlation. Journal of Basic and Applied Scientific Reseach 2(4): 3719-3723. https://doi.org/10.17485/ijst%2F2013%2Fv6i5%2F33244.
31. Yang H.S., Han D.K., Kim J.R., and Sim J.C. 2006. Effects of α-tocopherol on cadminum-induced toxicity in rat testis and spermatogenesis. Journal of Korean Medicinal Science 21(3): 445. doi: 10.3346/jkms.2006.21.3.445.
32. Yeater K.M., Bollero G.A., Bullock D.G., Rayburn A.L., and Rodriguez-Zas S. 2004. Assessment of genetic variation in hairy vetch using canonical discriminant analysis. Crop Science 44: 185-189. https://doi.org/10.2135/cropsci2004.1850.

Journal of Horticultural Science
https:// jhs.um.ac.ir

Research Article
Vol. 36, No. 1, Spring 2022, p. 271-283

Linear Modeling of the Impact of Pests and Diseases on the Growth Process of Strawberry Plants in the State Space

Z. Abbasi[1], I. Zamani[2*], M. Shafieirad[3], A.H. Amiri Mehra[4], M. Hosseinifarahi[5,6]

Received: 13-06-2021
Revised: 17-07-2021
Accepted: 30-08-2021
Available Online: 20-06-2022

How to cite this article:
Abbasi Z., Zamani I., Shafieirad M., Amiri Mehra A.H., and Hosseinifarahi M. 2022. Linear Modeling of the Impact of Pests and Diseases on the Growth Process of Strawberry Plants in the State Space. Journal of Horticultural Science 36(1): 271-283. (In Persian with English abstract)
DOI: 10.22067/JHS.2021.70888.1062

Introduction

Strawberry is a significant fruit due to its rich sources of vitamins and plenty of antioxidants and grows worldwide. Thus, studies that provide information on topics in strawberry growth are momentous. Strawberry production is often threatened by various pests. Therefore, pest management is one of the most critical points in strawberry cultivation and production that have to be considered. There are several pests that can have detrimental effects on strawberry production. For example, thrips is an important pest for strawberry in a greenhouse condition. There are many ways to deal with greenhouse pests; one of the best ways is to observe greenhouse hygiene and sanitation and use the proper chemical pesticides. Yet, it is impossible to predict the plant's growth stages in the usual ways to predict the time of using chemical pesticides. The time of each growth stage's occurrence can be predicted only by using simulation models and considering the factors affecting plant growth, such as environmental factors, pests, disease, and nutrition. To this end, this study aims to model the growth process of strawberry plants by considering pests and diseases' impact.

Materials and Methods

Monitoring the growth stages is a critical component of a successful strawberry growth program. To harvest more, it is vital to develop effective predicting tools. There are several approaches to investigate the change in the size and form of planets based on some growth conditions over time. The best-known mechanism of analyzing the growth process mathematically is simulation modeling. Models can be used as an alternative for statistical analysis of harvest of crops. They enhance the inferences about productive behavior and can be used to evaluate experiments. To introduce a desirable model, it is required to identify the essential features of the growth process, such as environment and climate. In this work, the dynamics of growing strawberry, the evolution of their size in time and their forms are modeled. Meanwhile, the plant's reaction to environmental factors such as pests and effective management factors on the environment and climate created for plant growth is investigated.

Results and Discussion

The use of growth models increases the analysis that can be made about the productive behavior of strawberry plants. Moreover, the proposed model has efficiency in predicting plant growth. This model, including simple relationships and the general concept of growth, is useful for teaching, learning, and researching to analyze plant growth factors. Furthermore, the proposed model can study how plants react to

1, 3 and 4- Ph.D. Student, Assistant Professor and Ph.D. Student, Electrical Control Engineering Department, University of Kashan, Kashan, Iran, respectively.
2- Assistant Professor, Electrical and Electronic Engineering Department, Shahed University, Tehran, Iran
5- Associate Professor, Department of Horticultural Science, Yasuj Branch, Islamic Azad University, Yasuj, Iran
6- Sustainable Agriculture and Food Security Research Group, Yasuj Branch, Islamic Azad University, Yasuj, Iran
(*- Corresponding Author Email: zamaniiman@shahed.ac.ir)

environmental factors such as pests and significant management factors on the environment and climate of plant growth. Besides, the model can help scholars, researchers, and plant producers with the ability to predict the amount and manner of plant growth and the effect of changing the number of pests. In this paper, the amount of disease and pests' damage for different rates in the growth stages is shown by using the plant growth process's modeling to reduce the amount of damage caused by pests by predicting the amount of damage and provide applicable, low cost and practical solutions. According to the results obtained in this study, since the lack of pest control causes only four out of ten healthy fruits to reach the full growth stage, control and repel pests are essential.

Conclusion

From the results of this study, it can be concluded that greenhouse owners and producers can simulate several growing seasons in a matter of seconds and predict the amount of harvest and loss of their crop by considering the environmental information of the area of study in which they decide to plant and knowing the effective rates in the process of plant growth and having a model. The greenhouse owners can predict the number of healthy and infected plants using the desired model before harvest by using the help of horticultural experts, collecting information about their environment, climate, soil, etc., and using different aspects affecting plant growth in the desired area. This approach can be extended to other crops to investigate the treatment effects and the production behavior throughout the crop cycle. Using this method predicts the crop cycle and leads to fruit production in a shorter period because the producer can use pesticides at the right time of production to decrease the damages to pests.

Keywords: Numerical Simulation, Pests, State Space Modeling, Strawberry

نشریه علوم باغبانی
https:// jhs.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۶، شماره ۱، بهار ۱۴۰۱، ص ۲۸۳-۲۷۱

مدل‌سازی خطی تأثیر آفات و بیماری‌ها بر روند رشد گیاه توت فرنگی در فضای حالت

زهره عباسی[۱]- ایمان زمانی[۲*]- محسن شفیعی راد[۳]- امیرحسین امیری مهرا[۴]- مهدی حسینی فرهی[۵،۶]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۳/۲۳
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۶/۰۸

چکیده

گیاه توت فرنگی به دلیل داشتن منابع غنی از ویتامین‌ها و آنتی اکسیدان، میوه‌ای با ارزش است که در سراسر جهان نیز رشد می‌کند ولی تولید آن اغلب توسط آفات مختلف تهدید می‌شود. از این‌رو، مدیریت آفات باید به عنوان یکی از مهمترین نکات در کشت و تولید گیاه توت فرنگی مورد توجه قرار گیرد. آفت تریپس به عنوان یک آفت گلخانه‌ای می‌تواند اثرات مخربی در تولید توت فرنگی داشته باشد، با این‌حال، روش‌های زیادی برای مقابله با آن وجود دارد. یکی از بهترین راه‌ها رعایت بهداشت گلخانه و استفاده از سموم شیمیایی مناسب است. با این حال، پیش بینی مراحل رشد گیاه به روش های معمول برای پیش بینی زمان استفاده از سموم شیمیایی غیرممکن است. زمان وقوع هر مرحله‌ی رشد تنها با استفاده از مدل‌های شبیه‌سازی و با در نظر گرفتن عوامل موثر در رشد گیاه مانند عوامل محیطی، آفات، بیماری‌ها و تغذیه قابل پیش‌بینی است. به همین منظور، نویسندگان در این مطالعه با در نظر گرفتن تأثیر آفات و بیماری‌ها، روند رشد گیاهان توت فرنگی را مدل‌سازی می‌کنند. مشهورترین مکانیزم تجزیه و تحلیل فرآیند رشد از نظر ریاضی، مدل‌سازی است. از مدل‌ها می‌توان به عنوان جایگزینی برای تجزیه و تحلیل آماری در برداشت محصولات استفاده کرد. مدل‌سازی توان استنتاج رفتار گیاه را افزایش می‌دهد و می تواند برای ارزیابی آزمایشات مورد استفاده قرار گیرد. برای معرفی یک مدل مطلوب، شناسایی ویژگی‌های اساسی روند رشد، مورد نیاز است. در این مطالعه، پویایی رشد توت فرنگی توسط سه متغیر حالت (گل، میوه جوان، میوه کامل) مدل شده است. در همین حال، واکنش گیاه به عوامل محیطی مانند آفات (بطور خاص آفت تریپس) و عوامل مدیریت موثر بر محیط و آب و هوای ایجاد شده برای رشد گیاه مورد بررسی قرار می‌گیرد. مدل پیشنهادی با داشتن روابط ساده که در برگیرنده مفهوم کلی رشد است دارای کارآیی لازم در پیش‌بینی رشد گیاه است و همچنین ابزاری مفید به فایده برای تجزیه و تحلیل عوامل رشد گیاه است. همچنین می‌توان به محققان، پژوهشگران و تولیدکنندگان کمک کرد تا توانایی پیش‌بینی میزان و نحوه رشد گیاه، متاثر از تغییر تعداد آفات را داشته باشند. علاوه بر این، میزان بیماری و خسارت آفات برای نرخ‌های مختلف در مراحل رشد را نشان داده تا با پیش‌بینی آن بتوان میزان خسارت ناشی از آفات را با هزینه‌های کم و راه حل‌های عملی کاهش داده و آن‌ها را به مرحله اجرا درآورد. طبق نتایج به دست آمده در این مطالعه، از آنجا که عدم کنترل آفات باعث می‌شود از هر ده میوه سالم فقط چهار میوه به مرحله رشد کامل برسند، کنترل و دفع آفات ضروری است. با استفاده از مدل پیشنهادی صاحبان گلخانه‌ها و تولیدکنندگان می‌توانند در عرض چند ثانیه چندین فصل رشد را شبیه‌سازی کرده و با در نظر گرفتن اطلاعات زیست محیطی منطقه مورد مطالعه و نرخ‌های موثر در روند رشد گیاه، میزان برداشت و از بین رفتن محصول خود را پیش‌بینی کنند.

واژه‌های کلیدی: آفات، توت فرنگی، شبیه‌سازی عددی، مدل‌سازی فضای حالت

۱، ۳ و ۴- به‌ترتیب دانشجوی دکتری استادیار و دانشجوی دکتری گروه برق و کامپیوتر، دانشگاه کاشان، کاشان
۲- استادیار دانشکده فنی مهندسی، دانشگاه شاهد، تهران
(*- نویسنده مسئول: Email: zamaniiman@shahed.ac.ir)
۵- دانشیار، گروه علوم باغبانی، واحد یاسوج، دانشگاه آزاد اسلامی، ایران
۶- گروه پژوهشی کشاورزی پایدار و امنیت غذایی، واحد یاسوج، دانشگاه آزاد اسلامی، یاسوج، ایران

DOI: 10.22067/JHS.2021.70888.1062

مقدمه

توت فرنگی (*Fragaria* × *ananassa* Duch) گیاهی علفی، چند ساله از خانواده گلسرخیان و یک میوه محبوب با ارزش تغذیه‌ای منحصر به فرد (سرشار از مواد معدنی، پروتئین، فیبرهای غذایی، آنتوسیانین‌ها، ویتامین‌ها، ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها) و عطر و طعم بسیار مطلوبی است می‌باشد (Farahi Hosseini, 2020). این میوه دارای ارزش غذایی و اقتصادی بالایی بوده که از نظر تولید میوه‌های ریز در دنیا پس از انگور در مقام دوم قرار دارد (Bessonov, 2008 و Salimi, 2016). زمان برداشت این میوه در زمان معمول و در مناطق معتدل، از اواخر اردیبهشت ماه تا اوایل تیرماه است. اما با پیشرفت تکنولوژی می‌توان با استفاده از روش‌های خاصی خارج از فصل، توت فرنگی را تولید کرد. نیاز روز افزون به محصولات کشاورزی موجب تغییر رویه از کشت بصورت گسترده به کشت متراکم شده است. یکی از روش‌های متداول برای کشت متراکم، کشت گلخانه‌ای است. کشت گلخانه‌ای یکی از روش‌هایی است که در جهت کنترل عوامل طبیعی و افزایش بهره وری در تولید به کار گرفته می‌شود (Ghaem Maghami, 2019). همچنین برای کشورهایی همچون کشور ایران که در منطقه‌ی خشک و کم باران قرار گرفته این موضوع از اهمیت بیشتری برخوردار است. اگرچه کشت گلخانه ای محیطی مناسب برای رشد گیاهان است، اما شرایط مناسبی را نیز برای رشد و تکثیر آفات فراهم می‌سازد و گاها موجب خساراتی به مراتب بیشتر از کشت در مزرعه می‌شود. حدود ۲۰۰ گونه آفات و بیماری‌ها به‌طور مستقیم و غیرمستقیم به توت فرنگی حمله می‌کنند (Kuhar, 2009). احتمالاً بعضی از انواع این آفات با توجه به عادت‌های زندگی می‌توانند در بیشتر گلخانه‌های دنیا وجود داشته باشد. تریپس[1] نیز یک نوع آفت مهم برای توت فرنگی در شرایط گلخانه است (Zamani, 2016). در شکل ۱ خسارت تریپس بر گیاه توت فرنگی نشان داده شده است.

برای تحلیل و شناخت آنچه در واقعیت اتفاق می افتد نیاز به استفاده از کامپیوتر به عنوان ابزاری برای تجزیه و تحلیل عملکرد، وجود دارد. بنابراین باید ابتدا آنچه در واقعیت اتفاق می‌افتد را مدل‌سازی و در نهایت شبیه‌سازی کرد. مدل‌سازی، به معنی یافتن یک رابطه، بین ورودی (علت تغییر) با خروجی (نتیجه تغییر) سیستم است. به عبارت دیگر یعنی بدست آوردن یک رابطه بین ورودی و خروجی سیستم، بطوری‌که اگر یک سیگنال ورودی مشابه به سیستم و مدل شبیه‌سازی شده اعمال گردد، خروجی‌های سیستم اصلی و مدل تقریبا یکسان باشند. شبیه‌سازی نیز به معنی راه انداختن و زنده کردن مدل ریاضی با استفاده از کامپیوتر برای بازسازی واقعیت می‌باشد. از این‌رو برای بررسی نحوه رشد این گیاه با در نظر گرفتن آفت‌هایی که ممکن است با آن درگیر شود از مدل‌سازی ریاضی استفاده می‌کنیم. مدل‌سازی به پژوهشگران و محققان کمک می‌کند تا روند رشد گیاه را تحلیل کرده و درصورت لزوم رفتار آن را پیش‌بینی کنند. مدل‌سازی ریاضی، نه تنها در علوم طبیعی کاربرد دارد بلکه حتی در علوم پزشکی و بیولوژی نیز کاربرد گسترده‌ای دارد (Abbasi, 2020، Amiri Mehra, 2019، Amiri Mehra, 2020 و Abbasi, 2021) که نشان‌دهنده سهم به‌سزای آن برای تفسیر نتایج تجربی در این زمینه است. همچنین مدل‌های معادله دیفرانسیل معمولی[2] یکی از محبوب ترین مدل‌ها هستند که می‌توان از آن‌ها برای شبیه‌سازی دینامیک رشد گیاهان استفاده کرد.

گسترش مدل‌سازی و کاربرد گسترده آن در بررسی و تفسیر روند رشد و نمو گیاهان، نویسندگان بسیاری را بر آن داشته که به مدل‌سازی و شبیه‌سازی انواع گیاهان بپردازند. در همین راستا، نیکولای و همکاران در (Bessonov, 2000) به معرفی مدل گیاهان، مدل‌های دینامیکی و در نهایت به شبیه‌سازی این مدل‌ها پرداخته اند. همچنین در برنامه‌های کاربردی که با مدل‌سازی رشد گیاهان سروکار دارند، توجه بیشتری به ساختار توپولوژیکی گیاهان می‌شود. درک بهتر از ساختار توپولوژیکی گیاه به زیست شناس در پالایش دانش گونه‌های گیاهی کمک می‌کند. در همین رابطه، در مقاله (Godin, 1998) کریستف و همکاران سعی کرده اند تا ماهیت چند مقیاسی سازه‌های توپولوژیکی گیاهان را مدل کنند، به این صورت که تجزیه و تحلیل یا شبیه سازی رشد گیاهان در مقیاس‌های زمانی و مکانی مختلف انجام شود.

بحث دیگری که می‌توان در گیاهان به آن پرداخت، ترتیب شاخه های اطراف ساقه است که تعیین کننده اصلی معماری گیاه است. با این حال، شکل خاص حالات شاخه‌ها مشخص نیست. در (Bessonov, 2008) نیکولای و همکاران الگویی انشعابی را پیشنهاد می‌کنند که به نظر می‌رسد با مشاهدات بیولوژیکی مطابقت دارد. آن‌ها یک گیاه در حال رشد را به عنوان یک سیستم مدل می‌کنند و فرض می‌کنند که تعداد و محل شاخه‌ها داده نشده اما مطابق قواعد معینی ظاهر شده و رشد می‌یابند که با استفاده از مدل‌سازی ریاضی مشخص می‌شود. علاوه بر این می‌توان فرآیندهای تصادفی را نیز برای مدل‌سازی ویژگی‌های عملکردی گیاهان در نظر گرفت که در مقاله (Jaeger, 1992) به‌طور کاربردی به آن اشاره شده است. در کتاب (Varenne, 2018) نیز فرانک با استفاده از مطالعات موردی و تفسیری از طیف وسیعی از رشته‌ها، با تأکید ویژه بر مورد مطالعات

1- Thrips

2- Ordinary Differential Equation Models

گیاهان نشان می‌دهد که چگونه و چرا رایانه‌ها، تغییراتی تدریجی و گسترده روی مدل‌های ریاضی انجام داده اند و چه عواملی منجر به گسترش مدل‌های شبیه‌سازی از دهه ۱۹۵۰ شده اند.

(c) (b) (a)

شکل ۱- خسارت آفت تریپس بر گیاه توت فرنگی

a) تریپس روی برگ. b) خسارت تریپس روی میوه توت فرنگی. c) خسارت تریپس روی برگ.

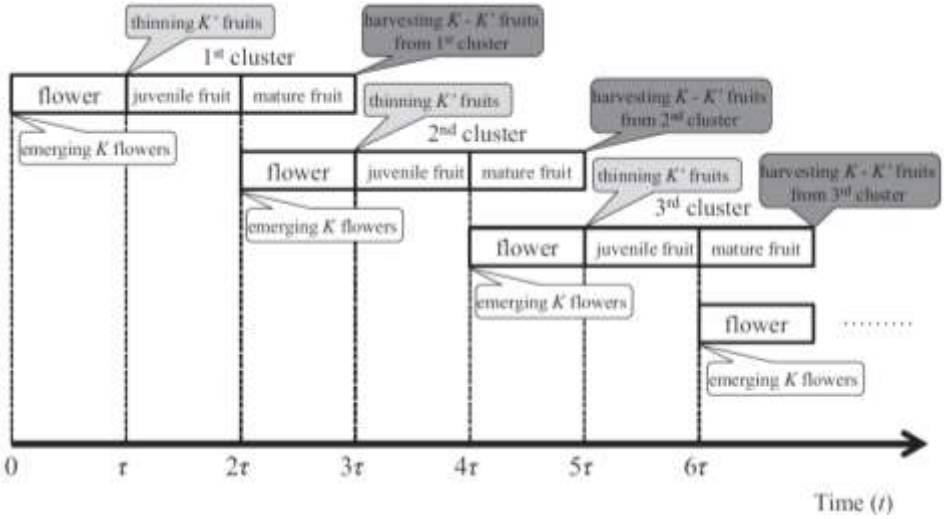
Figure 1- Thrips pest damage on the strawberry plant

a) Thrips on the leaves. b) Thrips damage on the strawberry fruit. c) Thrips damage on leaves

ساخت مدل در کشاورزی و به‌خصوص در تولید محصولات زراعی بر اساس پیدا کردن روابط منطقی و شناخت آن‌ها و تفسیر، تحلیل و بررسی این روابط با استفاده از شاخص‌های ریاضی است. اگرچه پیدا کردن این روابط به تجربه و تحقیقات گسترده نیاز دارد، اما پس از بدست آوردن اطلاعات لازم کمی کردن آن‌ها کار چندان مشکلی نیست (Behtri, 2014). آزمایشات و تحقیقات علمی نیازمند هزینه‌های زیاد و صرف وقت و دقت بسیار است که این موضوع برای کشورهای در حال توسعه به‌علت کمبود امکانات و پژوهشگر مشکل ساز است (Behtri, 2014). مدل در نظر گرفته شده در این مقاله نیز یک مدل پویا و وابسته به زمان است که به وضعیت سیستم در هر لحظه از زمان بستگی دارد. این مدل رشد و نمو گیاه توت فرنگی را شبیه‌سازی کرده و می‌تواند اثرات آفات را روی آن مورد ارزیابی قرار دهد. با استفاده از مدل‌سازی می‌توان روند رشد گیاه را تحلیل و تفسیر کرده، همچنین رفتار و عملکرد آن را در آینده پیش‌بینی کرد.

مواد و روش‌ها

ابتدا روند رشد گیاه توت فرنگی را بررسی کرده و در ادامه به مدل‌سازی دقیق آن می‌پردازیم. همانطورکه یوسوکه (Ikegawa, 2016) و ایمان (Zamani, 2016) ذکر کرده اند، سه مرحله را برای رشد توت فرنگی، یعنی مرحله گل‌دهی، تشکیل میوه و رسیدن میوه کامل فرض می‌کنیم. در شروع شبیه‌سازی $(t = 0)$، اولین خوشه دارای K گل و بدون هیچ میوه‌ای نمایان می‌شود. سپس، تمام گل‌ها گرده افشانی می‌کنند و به‌صورت همزمان در $t = s$ (در طی ۷ روز) به میوه‌های جوان تبدیل می‌شوند. سپس، تعداد K_0 تا از میوه‌های جوان نازک می‌شوند ($K \geq K_0$; $K_0 = 0$ به معنای نازک نشدن میوه است). تعداد $K - K_0$ از میوه‌های جوان باقیمانده پس از طی مراحل زمانی بیشتر به میوه‌های کامل تبدیل می‌شوند ($t = 2s$). در همان زمان که خوشه قدیمی به مرحله میوه کامل تبدیل می‌شود، یک خوشه جدید با K گل نمایان می‌شود (تعداد $K - K_0$ میوه کامل در خوشه قدیمی و تعداد K گل به طور همزمان در خوشه جدید وجود دارد). بعد از طی مراحل زمانی بیشتر $(t = 3s)$، تمام میوه‌های کامل در خوشه قدیمی برداشت می‌شوند و گل‌های موجود در خوشه جدید به میوه‌های جوان تبدیل می‌شوند (کلیه مراحل به‌صورت شماتیک در شکل ۲ نشان داده شده است). پس از این، ما یک گل، میوه‌ی جوان یا میوه‌ی کامل را به عنوان زیستگاه آفت و دشمن طبیعی می‌دانیم. شدت اغتشاشات دوره‌ای به نسبت میوه‌های جوانی گفته می‌شود که با نازک شدن میوه از بین می‌روند $\left(\frac{K_0}{K}\right)$. فرض می‌کنیم که یک آفت و دشمن طبیعی در K_0 محل‌های نازک شده همزمان با نازک شدن میوه حذف می‌شود. به همین ترتیب، آفات در $K - K_0$ محل برداشت هنگام انجام برداشت حذف می‌شوند.



شکل ۲- نمایش شماتیک مراحل رشد توت فرنگی در طول دوره زمانی (t).

s مدت زمان هر مرحله از رشد توت فرنگی را نشان می‌دهد.

Figure 2- Schematic representation of strawberry growth stages during time period (t)

"s" indicates the duration of each stage of strawberry growth.

اولین گام در فرآیند تحلیل سیستم‌ها، تشکیل مدل‌های ریاضی مناسب برای سیستمی است که می‌خواهیم آن را تحلیل کنیم. سیستم‌های دینامیکی[1] یا همان سیستم‌های پویا، سیستم‌هایی هستند که بر اساس یک قانون خاص، نسبت به زمان تغییر می‌کنند. در بسیاری از سیستم‌ها، این قانون را می‌توان با یک مجموعه معادلات دیفرانسیل مرتبه اول به‌صورت زیر بیان کرد

$$\dot{x} = \frac{dx}{dt} = f(x(t), u(t), t) \qquad (۱)$$

که در آن $x(t)$ بردار حالت و $u(t)$ بردار ورودی‌های خارجی سیستم بوده که در این مقاله در نظر گرفته نشده و در اینجا f تابعی خطی است. منظور از حالت در یک سیستم، متغیرهایی هستند که بیانگر رفتار سیستم می‌باشند. در اینجا سیستم، چرخه تکامل گیاه توت فرنگی در طول زمان می‌باشد که شامل سه متغیر (حالت) گل، میوه جوان و میوه کامل می‌باشد و منظور از "فضای حالت" مجموعه‌ای از مقادیر است که متغیرها (حالات) می‌توانند اختیار کنند. $\dot{x}$ مشتق حالات بر حسب زمان است که نشان دهنده تغییرات هر کدام از حالت‌ها در طول زمان می‌باشد که تابعی از خود حالات است. در مهندسی کنترل، "نمایش فضای حالت"[2]، یک مدل ریاضی از یک سیستم فیزیکی به‌صورت مجموعه‌ای از متغیرهای ورودی، خروجی و حالت مربوط به معادلات دیفرانسیل مرتبه اول است. به بیان دیگر، فضای حالت فضایی است که در آن متغیرهای روی محورها، متغیرهای حالت هستند. در نتیجه، نمایش فضای حالت برای رشد توت فرنگی به‌صورت زیر است:

$$\begin{cases} \dot{F}(t) = -\alpha F(t) \\ \dot{J}(t) = \alpha F(t) - (\beta + \xi) J(t) \\ \dot{M}(t) = \xi J(t) \end{cases} \qquad (۲)$$

که در آن $F(t)$، $J(t)$ و $M(t)$ به ترتیب بیانگر تعداد گل، میوه جوان و میوه کامل در واحد زمان (t) هستند. همچنین $\dot{F}(t)$، $\dot{J}(t)$ و $\dot{M}(t)$ نیز به ترتیب نشان دهنده آهنگ تغییرات تعداد گل، میوه جوان و میوه کامل در واحد زمان هستند. α، β و ξ به ترتیب نرخ تبدیل گل به میوه‌ی جوان، نرخ نازک شدن میوه‌های جوان در اثر آفات و نرخ تبدیل میوه‌های جوان به میوه‌های کامل هستند.

از آنجاییکه نمایش فضای حالت خطی تغییر ناپذیر با زمان است پس می‌توان آن را به‌صورت زیر نوشت:

$$\dot{X}(t) = AX(t)$$

بطوری‌که در آن $X(t) = [F \quad J \quad M]$ و $A = \begin{bmatrix} -\alpha & 0 & 0 \\ \alpha & -(\beta+\xi) & 0 \\ 0 & \xi & 0 \end{bmatrix}$ باشند.

معیارهای مختلفی وجود دارد که به کمک آن‌ها بتوان پایداری یا ناپایداری مجموعه نقاطی از فضای حالت سیستم را اثبات نمود. در نمایش فضای حالت سیستم‌های خطی تغییر ناپذیر با زمان، برای

1- Dynamic Systems
2- State Space Representation

بررسی پایداری کافی است محل مقادیر ویژه[1] سیستم را بررسی کرد. مقادیر ویژه ریشه‌های معادله مشخصه هستند. عبارت $|sI - A|$ را معادله مشخصه[2] گویند که علامت $|.|$ نشان دهنده دترمینان[3] یک ماتریس است. هنگامیکه مقادیر ویژه قسمت‌های حقیقی منفی دارند، پاسخ حالت گذرای سیستم با گذشت زمان به صفر میل می‌کند و پاسخ پایدار می‌ماند. هنگامیکه مقادیر ویژه قسمت‌های حقیقی مثبت داشته باشند، پاسخ به سمت بی نهایت همگرا می‌شود که در اینصورت آن‌را ناپایدار می‌نامیم. مقادیر ویژه مدل معرفی شده، $-\alpha$ و $-(\beta+\xi)$ هستند که با توجه به مثبت بودن پارامترها (α,β,ξ)، منفی هستند. در نتیجه سیستم پایدار است. برای مثال نمودارهای نشان داده شده در شکل ۳ (الف، ب و ج) که بیانگر تعداد گل‌ها، میوه‌های جوان و میوه‌های کامل هستند هیچگاه به سمت بی نهایت میل نمی‌کنند و به مقادیر ثابت و محدود رسیده و در آن باقی می‌مانند که این نشان‌دهنده کارایی مطلوب مدل‌سازی است.

نتایج و بحث

مدل‌های شبیه‌سازی گیاهان، مجموعه‌ای از معادلات قابل ارزیابی هستند که چگونگی تأثیر تغییرات محیطی روی رشد و نمو گیاه را نشان می‌دهند تا درک پژوهشگران را از اساس فیزیولوژیکی این تغییرات بالا ببرند. مدل‌های رشد و نمو قادرند با ترکیب علوم خاک، اقلیم، فیزیولوژی گیاه و هواشناسی در قالب معادلات ریاضی، عملکرد گیاه را درگسترهٔ وسیعی از شرایط محیطی و عوامل و عملکرد مدیریتی شبیه‌سازی کنند. همانطور که ذکر شد مدل، شکل ساده شده‌ای از واقعیت است که بسته به نوع پژوهش و اهداف مورد نظر می‌تواند از معادلات بسیار ساده تا شکل بسیار پیشرفتهٔ آن که شامل تعداد زیادی از معادلات ریاضی می‌باشد متغیر باشد. امروزه به دلیل گسترش سریع تکنولوژی استفاده از مدل‌های ریاضی برای گیاهان در حوزه علوم کشاورزی پیشرفت‌های چشم گیری داشته است و پژوهشگران و محققان زیادی بر اساس اهداف مورد نیاز خود روش‌های متنوعی را برای مدل‌سازی در نظر گرفته اند.

دلیل انتخاب گیاه توت فرنگی

توت فرنگی نیز یکی از گیاهان باغی مهم کشور می‌باشد. از آنجاییکه این گیاه بیشترین برداشت در واحد سطح را نسبت به محصولات دیگر دارد و هچنین می‌توان از کشت آن در گلخانه‌های کوچک بیشترین سود را نسبت به دیگر محصولات داشت، برای مدل‌سازی در این مقاله انتخاب شده است. با این وجود هر ساله تعدادی از گل‌های توت فرنگی به علت وجود آفات و مدیریت و عملکرد نامناسب در کشت و تغذیه گیاه به میوه تبدیل نمی‌شوند، از این‌رو با توجه به اینکه تاکنون مدل‌سازی مراحل رشد گیاه توت فرنگی انجام نشده است، هدف اصلی از این مطالعه، ساخت و شبیه سازی یک مدل ساده است تا در عین سادگی، بتوان از آن برای پیش‌بینی رشد و بررسی عملکرد این گیاه در شرایط گلخانه‌ای استفاده کرد.

نتایج نظری مدل‌سازی توسط نرم افزار متلب

در این بخش ما با استفاده از نرم افزار متلب که پرکاربردتر از نرم افزار CDSs-Model است، به بررسی نتایج بدست آمده از مدل‌سازی بخش قبل پرداخته و شبیه‌سازی می‌کنیم. تعداد گل‌ها در قالب یک جمعیت آماری برابر با ۱۰ عدد در نظر می‌گیریم $(K=10)$ که به سادگی قابل تعمیم به تعداد بالاتر نیز می‌باشد. نرخ تبدیل گل به میوه جوان را برابر با ۰/۷ $(\alpha=0.7)$ و نرخ تبدیل میوه جوان به میوه کامل را ۰/۲ $(\xi=0.2)$ در نظر می‌گیریم. بطور مثال اگر نرخ تبدیل گل به میوه جوان ۰/۷ باشد، یعنی هفتاد درصد این تعداد گل‌ها در واحد زمان، به میوه جوان تبدیل می‌شوند. این قضیه بطور مشابه برای نرخ تبدیل میوه جوان به میوه کامل نیز صادق است. بنابراین سه حالت ممکن پیش رو داریم:

نرخ تبدیل میوه جوان به میوه کامل از نرخ نازک شدن میوه‌های جوان در اثر آفت بیشتر باشد. $(\xi>\beta=0.1)$

در این قسمت از توابعی (که معمولا بر حسب زمان هستند) برای نشان دادن تغییرات هر کدام از مراحل رشد گیاه (گل، میوه جوان، میوه کامل) استفاده می‌شود. در واقع، از آنجا که زمان همواره در حال سپری شدن است، زمان خاصی را به عنوان مبدا زمان در نظر گرفته و تغییرات مراحل را بر حسب زمان رسم می‌کنیم.

شکل ۳ بیانگر روندی است که به ترتیب، تعداد گل‌ها، میوه جوان و میوه کامل، در طول زمان (دوره ۲۰ روزه) طی می‌کنند. همانطور که در شکل (۳-الف) مشاهده می‌کنید، تعداد گل‌ها در ابتدا $(t=0)$، ده عدد می‌باشد که به مرو زمان از تعداد آن‌ها کاسته می‌شود (زیرا به به میوه جوان تبدیل می‌شوند) و در نهایت در $t=s$ (در طی ۷ روز) به صفر می‌رسند که نشان دهنده این است که تمام گل‌ها به میوه جوان تبدیل شدند (در اینجا آفت طوری در نظر گرفته شده است که فقط روی میوه جوان تاثیر گذار باشد، یعنی هیچ گلی در این مرحله بر اثر آفت از بین نمی‌رود). با مشاهده شکل (۳-ب) به این نتیجه می‌رسیم که تعداد میوه‌های جوان در ابتدا $(t=0)$، صفر عدد بوده است زیرا هیچ گلی به میوه جوان تبدیل نشده است، رفته رفته با کم شدن تعداد گل‌ها به تعداد میوه‌های جوان افزوده می‌شود اما تعداد میوه‌های جوان نیز پس از مدتی کاهش می یابد که به دو دلیل انجام می‌گیرد: تاثیر آفت و تبدیل شدن به میوه کامل.

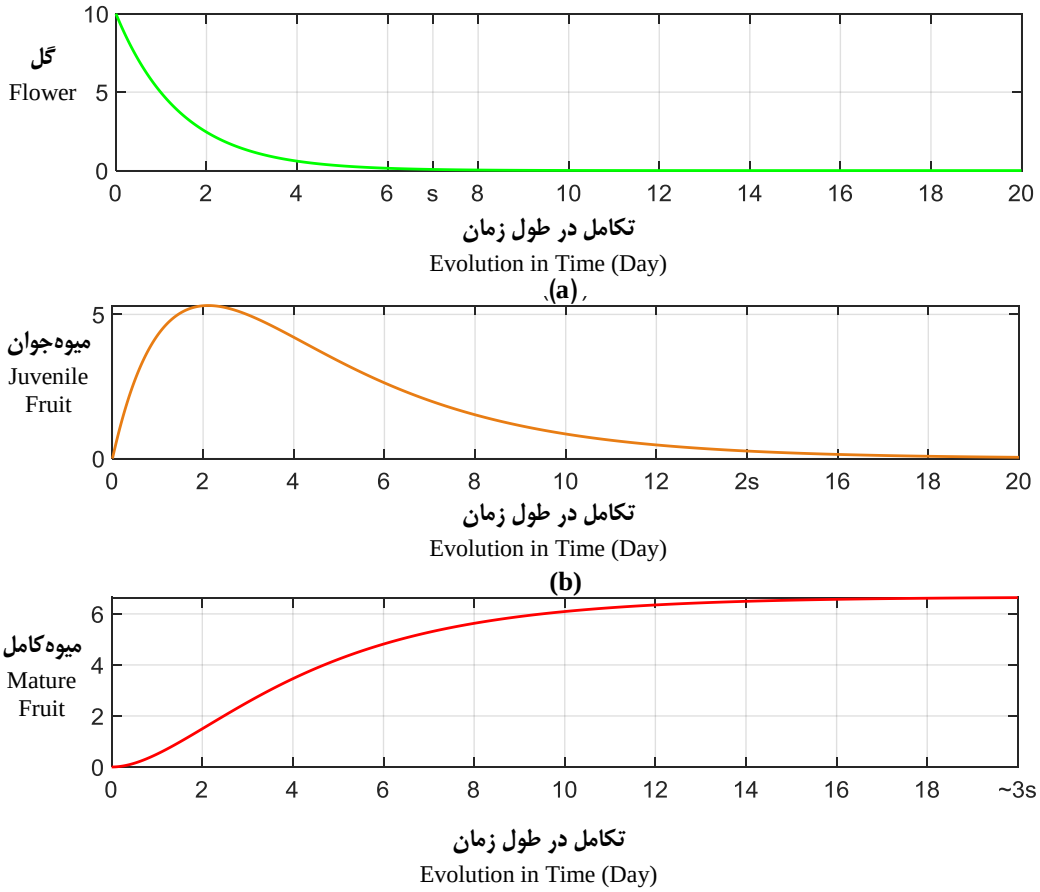
1- Eigenvalues
2- Characteristic Equation
3- Determinant

همانطور که ذکر شد، از آنجاییکه نرخ تبدیل میوه جوان به میوه کامل از نرخ نازک شدن میوه‌های جوان در اثر آفت بیشتر است، یعنی تعداد بیشتر از میوه‌های جوان به میوه کامل تبدیل می‌شوند و تنها تعداد کمی از آن‌ها در اثر آفت نابود می‌شوند. بنابراین، صفر شدن تعداد میوه‌های جوان در $t = 2s$ نشان دهنده این است که میوه‌های جوان یا به میوه کامل تبدیل شدند یا در اثر آفت از بین رفته‌اند. همچنین در شکل (۳-ج) در $t = 3s$ از ۱۰ گل تعداد بیشتری از آن‌ها (۶ عدد) به میوه کامل تبدیل شدند و تنها ۴ عدد در اثر آفت نابود شدند. در جدول ۱ نیز تعداد گل، میوه جوان و میوه کامل در هر روز برای حالت اول $(\xi > \beta = 0.1)$ مشخص شده است.

جدول ۱- تعداد گل، میوه جوان و میوه کامل به تفکیک در حالت اول $(\xi > \beta = 0.1)$

Table 1- Number of flowers, juvenile fruit and mature fruit separately in the first case $(\xi > \beta = 0.1)$

روز Day / تعداد Number	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
گل Flower	~2	~1	0	0	0	0	0	0	0	**0**
میوه جوان Juvenile Fruit	5	4	3	2	1	1>	1>	0	0	**0**
میوه کامل Mature Fruit	1	4>	5	6>	6	6<	6<	6<	6<	**6<**



شکل ۳- مراحل رشد توت فرنگی در حالت اول $(\xi > \beta = 0.1)$

Figure 3- Stages of strawberry growth in the first case $(\xi > \beta = 0.1)$

(a): Flower, (b): Juvenile Fruit, (c): Mature Fruit

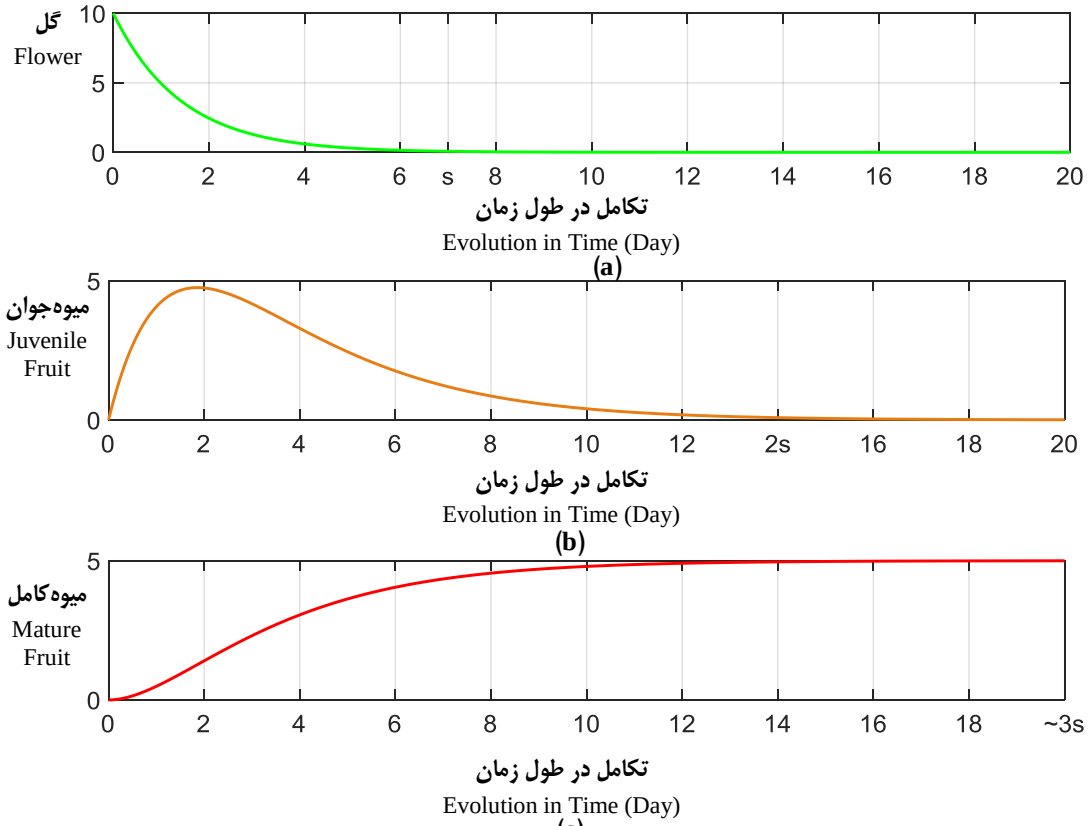
۱. نرخ تبدیل میوه جوان به میوه کامل برابر با نرخ نازک شدن میوه‌های جوان در اثر آفت است. $(\xi = \beta = 0.2)$

مشابه بررسی انجام شده در حالت اول، از آنجاییکه نرخ تبدیل میوه جوان به میوه کامل برابر با نرخ نازک شدن میوه‌های جوان در اثر آفت است، در نتیجه تعداد میوه‌های جوانی که به میوه کامل تبدیل می‌شوند برابر هستند با تعدادی از آن‌ها که در اثر آفت نابود می‌شوند. مطابق شکل ۴، تعداد گل‌ها در $t = s$ تقریبا به صفر رسیده است و تمام گل‌ها به میوه جوان تبدیل شدند. همچنین در $t = 2s$ تعدادی از میوه‌های جوان به میوه کامل تبدیل شدند و تعدادی در اثر آفت از بین رفته‌اند. در نهایت در $t = 3s$، با توجه به برابر بودن نرخ تبدیل میوه جوان به میوه کامل با نرخ نازک شدن میوه‌های جوان در اثر آفت، از ۱۰ گل تعداد ۵ عدد به میوه کامل تبدیل شدند و ۵ عدد باقی مانده در اثر آفت نابود شدند. جدول ۲ نیز بیانگر تعداد گل، میوه جوان و میوه کامل در هر روز برای حالت دوم $(\xi = \beta = 0.2)$ است.

جدول ۲- تعداد گل، میوه جوان و میوه کامل به تفکیک در حالت دوم $(\xi = \beta = 0.2)$

Table 2- Number of flowers, juvenile fruit and mature fruit separately in the second case $(\xi = \beta = 0.2)$

روز Day / تعداد Number	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
گل Flower	~2	~1	0	0	0	0	0	0	0	**0**
میوه جوان Juvenile Fruit	5>	4>	3>	2>	1>	1>	1>	0	0	**0**
میوه کامل Mature Fruit	1<	3<	5>	5>	5	5	5	5	5	**5**



شکل ۴- مراحل رشد توت فرنگی در حالت دوم $(\xi = \beta = 0.2)$

Figure 4- Strawberry growth stages in the second case $(\xi = \beta = 0.2)$

(a): Flower, (b): Juvenile Fruit, (c): Mature Fruit

۲. نرخ تبدیل میوه جوان به میوه کامل از نرخ نازک شدن میوه‌های جوان در اثر آفت کمتر باشد. $(\xi < \beta = 0.3)$

مشابه روند طی شده در دو حالت قبل، با در نظر داشتن بیشتر بودن نرخ تبدیل میوه جوان به میوه کامل از نرخ نازک شدن میوه‌های جوان در اثر آفت، تعداد میوه‌های جوانی که به میوه کامل تبدیل می‌شوند کمتر از آن تعدادی هستند که در اثر آفت نابود می‌شوند. جدول ۳ نشان دهنده تعداد گل، میوه جوان و میوه کامل در هر روز است.

جدول ۳- تعداد گل، میوه جوان و میوه کامل به تفکیک در حالت سوم $(\xi < \beta = 0.3)$

Table 3- Number of flowers, juvenile fruit and mature fruit separately in the third case $(\xi < \beta = 0.3)$

روز Day / تعداد Number	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
گل Flower	~2	1>	0	0	0	0	0	0	0	**0**
میوه جوان Juvenile Fruit	4	~3	2>	1>	1>	0	0	0	0	**0**
میوه کامل Mature Fruit	1	3	4>	4>	4	4	4	4	4	**4**

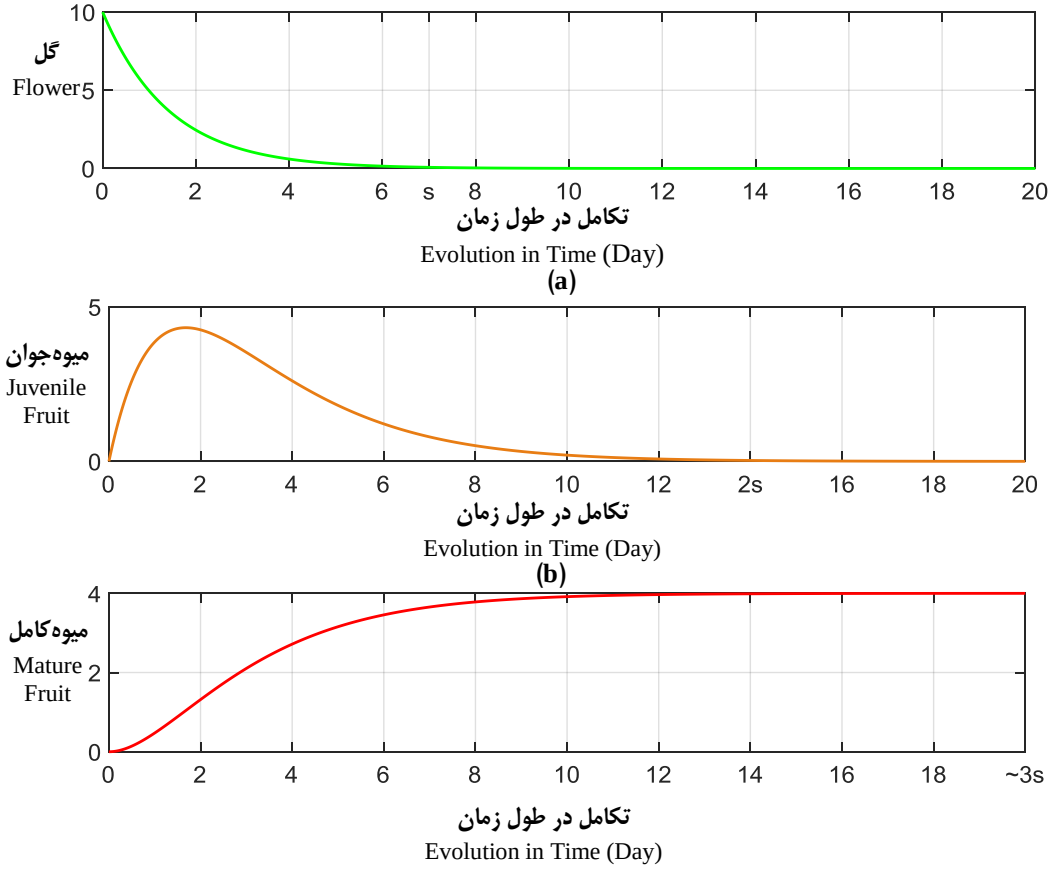
بطور مشابه و مطابق شکل ۵، تعداد گل‌ها در $t = s$ تقریبا به صفر رسیده است و تمام گل‌ها به میوه جوان تبدیل شدند. در $t = 2s$ تعدادی از میوه‌های جوان به میوه کامل تبدیل شدند و تعدادی در اثر آفات از بین رفته اند و در $t = 3s$، با توجه بیشتر بودن نرخ تبدیل میوه جوان به میوه کامل با نرخ نازک شدن میوه‌های جوان در اثر آفت، از ۱۰ گل تعداد ۴ عدد به میوه کامل تبدیل شدند و ۶ عدد در اثر آفت نابود شدند.

مقایسه مدل‌سازی مذکور با سایر مدل‌ها

در این بخش به نحوه مدل‌سازی در دیگر آثار می‌پردازیم. هدف تحقیقات بهرام و همکاران در مقاله (Andarzian, 2007) ساخت و شبیه‌سازی یک مدل در نرم افزار CDSs-Model بوده است تا بتواند مراحل رشد گیاه گندم را براساس مقیاس‌های موجود رشد، شبیه‌سازی و پیش‌بینی نماید. همچنین در مطالعه‌ای که توسط رضا و همکاران در مقاله (Dihimfard, 2012) انجام شده است نیز به بررسی مراحل رشد یکی دیگر از گیاهان زراعی، چغندر، پرداخته شده است. دو مدل ذکر شده را می‌توان مدل هایی تجربی در نظر گرفت که عمدتاً مبتنی بر روش‌های آماری هستند که روابط همبستگی بین فرآیندها را مورد استفاده قرار می‌دهند و مبتنی بر روابط مشتق شده از آنالیز رگرسیون و بر یافته‌های حاصل از تحقیقات در شاخه‌های مختلف علوم از قبیل هواشناسی، کشاورزی، خاک و غیره می‌باشد. این مدل‌ها عمدتاً مبتنی بر روابط رگرسیونی هستند که همبستگی عملکرد گیاه با داده‌های اقلیمی هواشناسی و عوامل مدیریتی (مثل آبیاری و دفع آفات) را نشان می‌دهند. از آنجاییکه این نوع مدل‌ها در واقع باز توصیف ریاضی از داده‌ها هستند بنابراین فقط قادر به پیش بینی عملکرد در مقیاس محلی می‌باشند و قادر به افزایش شناخت ما از داده‌ها نیستند و حاوی هیچ شناختی از سیستم نیست. اما مدل در نظر گرفته شده در این مقاله رابطهٔ بین فرآیندهای مختلف گیاهی و محیط را محاسبه می‌کند. علاوه بر این، ساختمان مدل مبتنی بر فرآیندهای واقعی رخ داده در سیستم مورد نظر است. همچنین بر خلاف مدل قبلی توصیف مبتنی بر شناخت از سیستم است. یکی از مزیت‌های این نوع مدل‌سازی قابل اجرا بودن آن در هر منطقه (تغییر در میزان آفات) با تغییرات اندکی در پارامترها می‌باشد که به سادگی می‌توان روند رشد گیاه را در آینده پیش بینی کرد.

بحث

مدل معرفی شده در این مقاله مراحل رشد و نمو گیاه توت فرنگی را شبیه‌سازی و پیش‌بینی کرده که امکان بررسی و تفسیر فرآیند رشد سیستم در مواجهه با انواع متغیرها یا پارامترهای مختلف در یک وضعیت واقعی را فراهم می آورد. همچنین تحلیل و پیش‌بینی رفتارات بالقوه با استفاده از مدل‌سازی کامپیوتری فراهم شده است. در نهایت سه حالت مهم برای نرخ‌های مختلف سیستم با توجه به شرایطی که امکان دارد در واقعیت با آن مواجه شویم در نظر گرفته شده و شبیه‌سازی لازم با استفاده از نرم افزار متلب (MATLAB) برای بررسی آن‌ها انجام شده است. این نرم افزار می‌تواند به عنوان یک ابزار کمکی برای پیش‌بینی مراحل رشد این گیاه در مناطق مختلف به منظور بهبود مدیریت و عملکرد (مصرف کودها، آفات کش‌ها، تغذیه گیاه، آب و هوای مطلوب و...) مورد استفاده قرار گیرد.



شکل ۵- مراحل رشد توت فرنگی در حالت سوم $(\xi < \beta = 0.3)$

Figure 5- Stages of strawberry growth in the third state $(\xi < \beta = 0.3)$

(a): Flower, (b): Juvenile Fruit, (c): Mature Fruit

مدل مذکور، مدلی ساده ولی در عین حالت کاربردی می‌باشد که به پارامترهای کمتری برای پیش بینی نیاز دارد اما تفسیر نتایج به دست آمده از آن آسان تر می‌باشد. در هر مرحله از شبیه‌سازی نرخ تبدیل میوه جوان به میوه کامل و نرخ نازک شدن میوه‌های جوان در اثر آفات برای زمانیکه در اثر عوامل محیطی و تغذیه‌ای و شرایط نامناسب، آفات با نرخ بیشتری به گیاه صدمه بزنند یا زمانیکه این دو نرخ برابر بوده و در نهایت زمانیکه آفات تاثیر چندانی روی میوه‌ها نداشته باشند بررسی شده و به‌خوبی مشخص است که زمانیکه نرخ تبدیل میوه جوان به میوه کامل از نرخ نازک شدن میوه‌های جوان در اثر آفت بیشتر باشد تعداد بیشتری از میوه‌ها سالم باقی می‌مانند اما زمانیکه نرخ تبدیل به میوه کامل از نابودی میوه در اثر آفت بیشتر باشد میوه‌های بیشتری نابود می‌شوند، یا در صورت برابری این دو نرخ، تعداد میوه‌های سالم و آفت زده با هم برابر هستند.

مدل‌سازی ما را قادر کرد تا پیش‌بینی‌های کمی و قاطعی را در مورد فرآیند رشد گیاه توت فرنگی، که متاثر از محیط اطراف است، انجام دهیم. از این طریق، توانستیم درستی و کارایی مطالعات تئوری‌ای را نیز بیازماییم. به این صورت که با مدل‌سازی هر مرحله از رشد در یک دوره زمانی و در یک ناحیه مشخص و اعمال آن به زمان و منطقه دیگر، می‌توان کمک موثری به مسئولان امر در جهت اعمال تمهیدات مدیریتی لازم برای بهبود عملکرد کرد. با این حال، باید در نظر داشت که مدل‌ها نمایش ساده‌ای از رفتار واقعی سیستم هستند و لذا قادر به بیان کامل رفتار سیستم در شرایط واقعی نخواهند بود. یک مدل کامل نیز هرگز وجود نداشته و در آینده نیز وجود نخواهد داشت زیرا مبنای روش مدل‌سازی، ساده‌سازی بخش مورد نیاز واقعیت است. اما می‌توان با در نظر گرفتن عوامل بیشتری که در روند رشد این گیاه تاثیر گذارند، مانند: میزان کوددهی در هر مرحله از رشد، تغییرات آب و هوایی، نوسانات اقتصادی بازار، عرضه و تقاضا و بسیاری از جنبه‌های دیگر با رویکرد فوق و ایجاد یک مدل جدید روند رشد را مورد مطالعه قرار داده و پیش‌بینی کامل‌تری انجام داد.

محدودیت‌هایی همچون کمبود زمان، اقلیم نامطلوب، هزینه زیاد،

امکانات کم و نبود نیروی متخصص مانع از آزمایش و کشت در مناطق باغی و آزمایشگاهی خصوصا در کشورهای در حال توسعه هستند. در نتیجه الزام به استفاده از مدل برای پیش بینی روند رشد گیاه در آینده احساس می‌شود. مدل مذکور از طریق شبیه سازی این امکان را برای گلخانه داران فراهم می سازد تا محیط مورد نظر برای کشت را کنترل و تاثیر عوامل محیطی همچون آفات و بیماری‌ها را به تفکیک بررسی کند زیرا با استفاده از مدل، عوامل محیطی تحت کنترل قرار می‌گیرند و تاثیر میزان آفت کش‌ها به تفکیک قابل مطالعه است. همچنین استفاده از این نوع مدل شبیه‌سازی می‌تواند به برنامه ریزی کشاورزی در کشورهای در حال توسعه کمک کند.

در بسیاری از کشورها تعداد کمی از انواع خاک و شرایط آب و هوایی و بطور کلی اقلیم برای کشاورزی وجود دارد که آزمایش برای بررسی روند رشد گیاه در آن‌ها غیر ممکن است. همچنین آزمایش در همه اقلیم‌ها با آب و هوای مطلوب نیز صرفه اقتصادی ندارد. اما با استفاده از مدل و در دست داشتن داده‌های مرتبط با تغییرات آب و هوایی و نرخ رشد گیاه در سال‌های متمادی در مناطق دیگر می‌توان دستورالعمل‌های ساده‌ای برای گلخانه‌داران وضع کرد تا بتوانند عملکرد گیاه را برای اقلیم‌هایی که گیاه تا کنون در آن‌ها کاشته نشده است را پیش‌بینی کنند.

نتیجه‌گیری

از نتیجه‌های این پژوهش می‌توان چنین نتیجه گرفت که، گلخانه داران با در نظر گرفتن اطلاعات محیطی از منطقه ای که تصمیم به کاشت گیاه در آن دارند و اطلاع از نرخ‌های موثر در روند رشد گیاه و در دست داشتن مدل می‌توانند چندین فصل رشد را در عرض چند ثانیه شبیه‌سازی کنند و به پیش بینی میزان برداشت و ضرر محصول خود بپردازند. گلخانه‌دار می‌تواند با کمک گرفتن از متخصصین باغبانی و اطلاع از محیط و اقلیمی که در آن قرار دارد و استفاده از نرخ‌های مختلف تاثیرگذار در رشد گیاه در منطقه موردنظر و داده‌های صحیح از گیاه، خاک، آب و هوا، تعداد گیاهان سالم و آفت زده و به‌طور کلی عملکرد گیاه را قبل از برداشت، پیش‌بینی کرده تا به حصول و بهبود عملکرد خود کمک کند. علاوه بر این با این مدل می‌توان دستورالعمل‌های تصمیم گیری برای گلخانه داران و بدون نیاز به آزمایش‌های مزرعه‌ای تهیه نمود. مدل ارائه شده کارایی لازم در پیش‌بینی رشد و عملکرد گیاه را دارد. همچنین این مدل با داشتن روابطی ساده و در عین حال در برگیرنده مفهوم کلی رشد، می‌تواند به‌عنوان ابزاری برای تعلیم و آموزش نحوه رشد و نمو گیاه توت فرنگی و یک وسیله آموزشی و تحقیقاتی برای تجزیه و تحلیل عوامل موثر روی رشد گیاه برای دانشجویان نیز بسیار مفید باشد. با استفاده از این مدل می‌توان به بررسی مفهوم چگونگی واکنش گیاه به عوامل محیطی همچون آفات و همچنین عوامل مدیریتی موثر روی محیط و آب و هوای ایجاد شده برای رشد گیاه پرداخت.

منابع

1. Abbasi Z., Zamani I., Amiri Mehra A.H., Shafieirad M., and Ibeas A. 2020. Optimal Control Design of Impulsive SQEIAR Epidemic Models with Application to COVID-19. Chaos, Solitons & Fractals 139: 110054. https://doi.org/10.1016/j.chaos.2020.110054.
2. Amiri Mehra A.H., Zamani I., Abbasi Z., and Ibeas A. 2019. Observer-Based Adaptive PI Sliding Mode Control of Developed Uncertain SEIAR Influenza Epidemic Model Considering Dynamic Population. Journal of Theoretical Biology 482: 109984. https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2019.08.015.
3. Amiri Mehra A.H., Shafieirad M., Abbasi Z., and Zamani I. 2020. Parameter Estimation and Prediction of COVID-19 Epidemic Turning Point and Ending Time of a Case Study on SIR/SQAIR Epidemic Models. Computational and Mathematical Methods in Medicine, 2020. https://doi.org/10.1155/2020/1465923.
4. Abbasi Z., Zamani I., Amiri Mehra A.H., Ibeas A., and Shafieirad M. 2021. Optimal Allocation of Vaccine and Antiviral Drugs for Influenza Containment over Delayed Multi-Scale Epidemic Model Considering Time-Dependent Transmission Rate. Computational and Mathematical Methods in Medicine, 2021. https://doi.org/10.1155/2021/4348910.
5. Andarzian B., Bakhshandeh A., Fathi Q., Khalil Alemi S., Banayan M., and Imam Y. 2007. A Model for Simulating the Developmental Stages of Crops. Agriculture and Horticulture 71-79. (In Persian)
6. Behtri B. 2014. Mathematical Models of Crop Growth and Operation. 228 pages. (In Persian)
7. Bessonov N., and Volpert V. 2000. Dynamical Models of Plant Growth, Mathematics Subject Classification.
8. Bessonov N., Morozova N., and Volpert V. 2008. Modeling of Branching Patterns in Plants. Bulletin of Mathematical Biology 70(3): 868-893. https://doi.org/10.1007/s11538-007-9282-1.
9. Danaeifar A., Gholami M., Mobli M., and Bani Nasab B. 2020. The Effect of Paclobutrazol and Calcium Prohexadione on Some Physiological Characteristics and Quality of Strawberry Fruit of Parus Cultivar. Iranian Journal of Horticultural Science and Technology 21(1): 1-10. (In Persian with English abstract).

http://dx.doi.org/10.29252/jcpp.9.2.1.
10. Dihimfard R., Nasiri Mahallati M., and Kouchaki A. 2012. A Simple Model to Simulate the Growth, Development and Yield of Sugar Beet in Terms of Potential and Nitrogen Limitation. Journal of Ecological Agriculture 1-20.
11. Ghaem Maghami F., Zarei M., Yathribi J., and Eshghi S. 2019. The Effect of Different Levels of Nitrogen, Vermicompost and Nitrogen on Morphological Characteristics. Greenness Index and Strawberry Yield in Greenhouse Conditions, Iranian Journal of Horticultural Sciences and Techniques 251-262. (In Persian). https://civilica.com/doc/1160179/.
12. Godin C., and Caraglio Y. 1998. A Multiscale Model of Plant Topological Structures. Journal of Theoretical Biology 191(1): 1-46. https://dx.doi.org/10.1006/jtbi.1997.0561.
13. Hosseini Farahi M., Jamshidi E., Amiri S., Kamyab F., and Radi M. 2020. Quality, Phenolic Content, Antioxidant Activity, and the Degradation Kinetic of Some Quality Parameters in Strawberry Fruit Coated with Salicylic Acid and *Aloe vera* Gel. Journal of Food Processing and Preservation 44(9): 14647. https://doi.org/10.1111/jfpp.14647.
14. Kuhar T., and Pfeiffer D. 2009. Insect Pests of Strawberries and Their Management, Virginiafruit.ento.vt.edu.
15. Ikegawa Y., Mori K., Ohasa M., Fujita I., Watanabe T., Ezoe H., and Namba T. 2016. A Theoretical Study on Effects of Cultivation Management on Biological Pest Control: A Spatially Explicit Model. Biological Control 93: 37-48. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2015.11.008.
16. Jaeger M., and Reffye D. 1992. Basic Concepts of Computer Simulation of Plant Growth. Journal of Biosciences 17: 275-291. http://dx.doi.org/10.1007/BF02703154.
17. Salimi F., Ahmadian A., Alipnah M., and Kaveh H. 2016. Strawberries, an Alternative Product for Sustainable Agriculture. The First National Symposium on Small Fruits, Shiraz University 179-185. (In Persian)
18. Varenne F. 2018. From Models to Simulations. London, UK: Routledge, 244. https://doi.org/10.4324/9781315159904
19. Zamani I., and Hosseini Farahi M. 2016. A Hybrid State Space Modelling Study on Effects of Cultivation Management on Biological Pest Control for Strawberry Plants. VIII International Strawberry Symposium 1156: 817-820. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2017.1156.120.

Journal of Horticultural Science
https:// jhs.um.ac.ir

Research Article
Vol. 36, No. 1, Spring 2022, p. 285-306

Effect of Application of Organic and Biological Fertilizers on Growth and Biochemical Characteristics of Fennel (*Foeniculum vulgar* Miller) under Greenhouse Conditions

S.A.H. Bahari Meymandi[1], Sh. Sharafzadeh[2*], O. Alizadeh[3], F. Bazrafshan[4], B. Amiri[5]

Received: 20-06-2021
Revised: 17-07-2021
Accepted: 08-08-2021
Available Online: 20-06-2022

How to cite this article:
Bahari Meymandi S.A.H., Sharafzadeh Sh., Alizadeh O., Bazrafshan F., and Amiri B. 2022. Effect of Application of Organic and Biological Fertilizers on Growth and Biochemical Characteristics of Fennel (*Foeniculum vulgar* Miller) under Greenhouse Conditions. Journal of Horticultural Science 36(1):285-306. (In Persian with English Abstract)
DOI: 10.22067/JHS.2021.70948.1063

Introduction

In recent years, the aggressive application of chemical fertilizers for agricultural production has endangered the health of soil, water, air, as well as crops, and has raised many concerns for the global environment and human health. In addition to the positive biological effects and modification of soil physical and chemical properties due to the gradual release of nutrients, organic fertilizers cause less pollution in the environment. Due to the significant role of medicinal and aromatic plants in different industries, it is important to increasing production of yield and secondary metabolite produced without the use of harmful chemical fertilizers. Fennel (*Foeniculum vulgare* Mill) is widely grown in arid and semi-arid regions and due to its economic importance and pharmaceutical industrial applications, it is one of the world's most dimension medicinal plant. This plant has antiseptic, antispasmodic, antiinflammatory, diuretic, carminative and analgesic effects and is effective in gastrointestinal disorder treatment. Moreover with its antioxidant and antiulcer properties, it is used to treat neurological disorders.

Materials and Methods

This study was conducted to evaluate the effects of organic and biological fertilizers on the morpho-physiological and phytochemical properties of fennel (*Foeniculum vulgar* Miller). In this study, the impacts of vermicompost (0, 4, 8% in pot), animal manure (0, 7.5, 15% in pot) and mycorrhizal fungi (0, 1%) on physiological and biochemical properties of fennel in greenhouse conditions was evaluated. In order to extract the samples to measure biochemical factors, methanol 70% was used at a ratio of 5:1 (volume- weight). Determination of free radical scavenging was performed by using the DPPH test. The samples' absorptions were read at a wavelength of 517 nm with Epoch Microplate Spectrophotometer, BioTek Instruments, Inc., USA. Measuring the total phenols was performed according to the Folin's reagent method and the use of gallic acid as standard (purchased from the brand MERCK, Germany) by using a spectrophotometer at the wavelength of 765 nm. Total flavonoid content was measured using a spectrophotometer at a wavelength of 510 nm through a standard curve of quercetin from Sigma-Aldrich. The Essential oils were obtained from seeds by hydrodistillation for 3 h using a clevenger type device. The analyses of essential oil volatile components were determined by gas chromatography (GC) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Data were analyzed by using Duncan's multiple range test ($P< 0.05$) by SAS, version 9.4 for Windows.

Results and Discussion

1, 2, 4 and 5- Ph.D. Student in Agronomy and Assistant Professors of Department of Agriculture, Firoozabad Branch, Islamic Azad University, Firoozabad, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: shahramsharafzadeh@hotmail.com)
3- Associate Professor Department of Agriculture, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran

The results of current investigation showed that organic and biological fertilizers improved the fennel yield and phytochemical properties such as the plant height, seed weight per plant, fresh and dry weight of roots and plants, content of total phenols and flavonoids, antioxidant activity, percentage of essential oil and root colonization. The highest plant height, number of flowers, umbrellas and seeds per plant and fresh and dry weight of roots were obtained after combined application of 8% in pot vermicompost, 15% in pot animal manure and application of mycorrhiza. According to the results, the highest amount of total flavonoids (177.66 mg/100g DW) and root colonization (35.8%) after of 8% in pot vermicompost + 15% in pot animal manure + mycorrhiza application was observed. The results also revealed that the highest fresh and dry weight of the plants (121.33 and 17.41 g, respectively) was obtained after application of mycorrhiza + 15% in pot animal manure. Application of mycorrhiza in combination with 15% in pot animal manure compared to other treatments caused a significant increase in total phenol content in aerial parts with 73.22 mg/100g DW. In addition, the highest amount of antioxidant activity (51%) was obtained after 8% in pot vermicompost + 15% in pot animal manure application. Application of organic and biological fertilizers significantly increased the 1000 seed weight and the percentage of essential oil in fennel. After 15% in pot animal manure treatment, the highest percentage of essential oil by 3.43% was recorded. In general, the highest percentages of essential oil components were related to (E)-Anethole (78.26%), Fenchone (7.15%), Limonene (6.12%) and Methyl chavicol (3.85%), respectively. The amount of (E)-Anethole as the essential oil predominant compound, in the control treatment was 66.92%. The application of mycorrhiza + 4% in pot vermicompost increased the content of (E) -Anethole in essential oil to 80.72%.

Conclusion

In general, application of vermicompost, animal manure and mycorrhizal fungi improved the growth, biochemical and yield characteristics and essential oil yield of fennel in greenhouse conditions. These fertilizers increased plant yield by providing large amounts of required nutrients and affecting various aspects of root growth and development. Among them, the role of nitrogen may be more prominent due to its participation in protein synthesis and the role of iron in nitrogen fixation, photosynthesis and electron transfer.

Keywords: Essential oil, Fennel, Seed yield, Flavonoid, Mycorrhiza

نشریه علوم باغبانی
https:// jhs.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۶، شماره ۱، بهار ۱۴۰۱، ص ۳۰۶-۲۸۵

اثر کاربرد کودهای آلی و زیستی بر خصوصیات رشدی و بیوشیمیایی رازیانه (*Foeniculum vulgar* Miller) در شرایط گلخانه

سید امیرحمزه بهاری میمندی[۱]- شهرام شرف زاده[۲]*- امید علیزاده[۳]- فرود بذرافشان[٤]- بهرام امیری[٥]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۳/۳۰
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۵//۱۷

چکیده

این پژوهش به منظور بررسی اثرات کاربرد کودهای آلی و زیستی بر خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی رازیانه (*Foeniculum vulgar* Miller) انجام شد. در این مطالعه، اثر ورمی‌کمپوست (صفر، ۴ و ۸ درصد در گلدان)، کود حیوانی (صفر، ۷/۵ و ۱۵ درصد در گلدان) و قارچ مایکوریزا (تلقیح ۱ درصد و عدم تلقیح) بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی رازیانه در شرایط گلخانه مورد بررسی قرار گرفت. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا شد. نتایج نشان داد کودهای آلی و زیستی باعث بهبود خصوصیات عملکردی و فیتوشیمیایی رازیانه نظیر ارتفاع بوته، وزن دانه در بوته، وزن تر و خشک ریشه و گیاه، محتوای فنول و فلاونوئید کل، فعالیت آنتی اکسیدانی، درصد اسانس و درصد کلونیزاسیون شدند. حداکثر ارتفاع بوته، تعداد گل، چتر و دانه در بوته و وزن تر و خشک ریشه، پس از کاربرد تلفیقی ۸ درصد در گلدان ورمی‌کمپوست، ۱۵ درصد در گلدان کود حیوانی و کاربرد مایکوریزا حاصل گردید. بر اساس نتایج، بالاترین میزان فلاونوئید کل (۱۷۷/۶۶ میلی‌گرم در صد گرم ماده خشک) پس از کاربرد تلفیقی ۸ درصد در گلدان ورمی‌کمپوست، ۱۵ درصد در گلدان کود حیوانی و کاربرد مایکوریزا مشاهده شد. نتایج این مطالعه نشان داد بیشترین وزن تر و خشک گیاه (به ترتیب با میانگین‌های ۱۲۱/۳۳ و ۱۷/۴۱ گرم) پس از کاربرد تلفیقی مایکوریزا و ۱۵ درصد در گلدان کود حیوانی حاصل گردید. کاربرد مایکوریزا در ترکیب با ۱۵ درصد در گلدان کود حیوانی نسبت به سایر تیمارها باعث افزایش معنی‌دار محتوای فنول کل در اندام هوایی با میانگین ۷۳/۲۲ میلی‌گرم در صد گرم ماده خشک شد. افزون بر این، بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۵۱ درصد) پس از کاربرد تلفیقی ۸ درصد در گلدان ورمی کمپوست و ۱۵ درصد در گلدان کود حیوانی حاصل گردید. کاربرد کودهای آلی و زیستی به طور معنی‌داری باعث افزایش وزن هزار دانه و درصد اسانس در گیاه رازیانه شد. پس از اعمال تیمار ۱۵ درصد در گلدان کود حیوانی، بیشترین درصد اسانس میوه با میانگین ۳/۴۳ درصد حاصل گردید. به طور کلی بالاترین درصد اجزای تشکیل‌دهنده اسانس میوه در شرایط گلخانه، به ترتیب مربوط به (E)-Anethole (۷۸/۲۶ درصد)، Fenchone (۷/۱۵ درصد)، Limonene (۶/۱۲ درصد) و Methyl chavicol (۳/۸۵ درصد) بود. میزان (E)-Anethole به عنوان ترکیب غالب اسانس، در تیمار شاهد ۶۶/۹۲ درصد گزارش گردید. کاربرد تلفیقی مایکوریزا و ۴ درصد در گلدان ورمی کمپوست محتوای (E)-Anethole موجود در اسانس را تا ۸۰/۷۲ درصد افزایش داد. به طور کلی ورمی‌کمپوست، کود حیوانی و مایکوریزا باعث بهبود خصوصیات رشدی، بیوشیمیایی و عملکرد اسانس رازیانه شد. این کودها با در اختیار قرار دادن مقادیر زیادی از عناصر غذایی مورد نیاز و تأثیر بر جنبه‌های مختلف رشد و توسعه ریشه، عملکرد گیاه را افزایش دادند. در این میان شاید نقش نیتروژن به دلیل مشارکت در پروتئین‌سازی و نقش آهن در تثبیت نیتروژن، فتوسنتز و انتقال الکترون، بیشتر از بقیه نمایان باشد.

واژه‌های کلیدی: اسانس، رازیانه، عملکرد بذر، فلاونوئید، مایکوریزا

۱، ۲، ۴ و ۵- به‌ترتیب دانشجوی دکتری زراعت و استادیاران، گروه کشاورزی، واحد فیروزآباد، دانشگاه آزاد اسلامی، فیروزآباد، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: shahramsharafzadeh@hotmail.com)
۳- دانشیار گروه کشاورزی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران

DOI: 10.22067/JHS.2021.70948.1063

مقدمه

سلامت محصولات تولید شده در سیستم‌های کشاورزی از نظر وجود بقایای سموم و مواد شیمیایی و تأثیر آن‌ها بر سلامت انسان و محیطزیست، توجه ویژه‌ای را به روش‌های تولید و نهادهای بکار رفته در امر تولید معطوف داشته است. در سال‌های اخیر در پی بحران آلودگی‌های زیست محیطی تلاش‌های گسترده‌ای به منظور یافتن راهکارهای مناسب برای بهبود کیفیت خاک و محصولات کشاورزی، حذف آلاینده‌ها و حفظ پایداری اکوسیستم‌های طبیعی آغاز شده است. کودهای آلی علاوه بر اثرات مثبت بیولوژیک و اصلاح خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک به علت آزادسازی تدریجی مواد غذایی، آلودگی کمتری را در محیط زیست ایجاد می‌کنند (Kheiry *et al.*, 2016). استفاده از کودهای آلی در سیستم ارگانیک و مدیریت پایدار خاک از اهمیت بالایی برخوردار است. بسیاری از محققین اعتقاد دارند کودهای آلی با افزایش مواد آلی و هوموس خاک موجب افزایش درصد خلل و فرج و اسفنجی شدن خاک و در نهایت کاهش وزن مخصوص ظاهری خاک می‌شوند. این عوامل نیز به نوبه خود موجب رشد و گسترش بیشتر ریشه گیاهان در خاک و در نهایت بهبود جذب آب و عناصر غذایی و افزایش عملکرد گیاهان می‌شود (Weber *et al.*, 2007). کودهای آلی با بهبود ساختمان فیزیکی، هدایت هیدرولیکی، نفوذ آب، تقویت فعالیت زیستی و آنزیمی خاک در نهایت موجب افزایش حاصلخیزی خاک می‌شوند. استفاده از کودهای زیستی در خاک یک روش به زراعی برای حفظ مواد آلی خاک، اصلاح خاک‌های تخریب یافته و تأمین عناصر غذایی گیاهان می‌باشد (Weber *et al.*, 2007).

ورمی‌کمپوست نوعی کمپوست تولیدشده به کمک کرم‌های حلقوی قرمز[1] (Garg *et al.*, 2006) می‌باشد که دارای تخلخل بالا و ظرفیت زیاد نگهداری آب و همچنین قدرت جذب و نگهداری بالای عناصر غذایی بوده که باعث افزایش قابلیت دسترسی گیاه به نیتروژن و فسفر و همچنین افزایش عملکرد گیاهان می‌گردد (Prabha *et al.*, 2007). ورمی‌کمپوست‌ها ویژگی‌های متمایزتری نسبت به سایر کمپوست‌ها دارند که می‌توان به کوتاه بودن پروسه تولید آن‌ها، وجود ساختاری بسیار ظریف و مطلوب‌تر و همچنین حاوی عناصر غذایی در فرم‌هایی با دسترسی بسیار آسان‌تر برای جذب گیاه هستند، اشاره کرد (Roy *et al.*, 2010). گزارشاتی مبنی بر حضور ویتامین B_{12} و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی در ورمی‌کمپوست‌ها وجود دارد (Atiyeh *et al.*, 2000). احتمالاً خواص فیزیکوشیمیایی مواد هیومیکی موجود در ورمی‌کمپوست‌ها، از طریق افزایش ظرفیت نگهداری عناصر غذایی و تنظیم‌کننده‌های رشد (Arancon *et al.*, 2005) و همچنین افزایش پویایی ریز جانداران خاک (Arancon *et al.*, 2004) باعث بهبود عملکرد در گیاهان می‌شود. علاوه بر این ورمی‌کمپوست‌ها با خاصیت بافری که دارند از تغییرات pH در خاک جلوگیری کرده و جذب کاتیون‌ها را که در خاک‌های قلیایی رسوب می‌کنند، افزایش می‌دهند (Bouwman and Reinecke, 1991).

همزیستی قارچ‌ریشه از رایج‌ترین و سابقه‌ترین روابط همزیستی در سلسله گیاهان است که در اکثر اکوسیستم‌ها وجود دارد؛ به طوری که اکثر گیاهان (حدود ۸۰ درصد گونه‌های گیاهان آوندی) لااقل یکی از تیپ‌های مایکوریزا را دارا هستند (Behrooz *et al.*, 2019). مهم‌ترین و معتبرترین تأثیر رابطه همزیستی مایکوریزا آربسکولار افزایش جذب عناصر معدنی و به ویژه فسفر در گیاه میزبان می‌باشد که این تأثیر بخصوص در اراضی که فسفر محلول در خاک کم بوده یا در اثر خشکی ضریب پخشیدگی عنصر فسفر بسیار کاهش یافته است، مشهودتر است (Jeffries *et al.*, 2003). یکی از مهم‌ترین اثرات قارچ‌های مایکوریزا، افزایش عملکرد گیاهان زراعی خصوصاً در خاک‌هایی با حاصلخیزی پایین است. چن و همکاران (Chen *et al.*, 2020) معتقدند استفاده از قارچ مایکوریزا سرعت رشد گیاه را افزایش داده و بر تخصیص و انتقال مواد بین ریشه و ساقه اثر می‌گذارد، به طوری که با جذب بیشتر عناصر غذایی و انتقال آن‌ها، افزایش وزن خشک اندام هوایی را موجب می‌شوند. در مطالعات متعددی نقش مثبت همزیستی مایکوریزایی در بهبود خصوصیات رشدی گیاهان، مقاومت در برابر تنش‌ها، بازچرخش عناصر غذایی و بهبود کیفیت خاک گزارش شده است (Amiri *et al.*, 2015).

رازیانه (*Foeniculum vulgar* Miller) گیاهی از خانواده چتریان و از قدیمی‌ترین گیاهان ادویه‌ای و دارویی است. منشأ این گیاه نواحی مدیترانه و جنوب اروپا گزارش شده است. در اکثر فارماکوپه‌ها، خاصیت دارویی میوه رازیانه مورد تأکید قرار گرفته است. میوه این گیاه بویی مطبوع دارد که به بوی انیسون شبیه است (Omidbeygi, 2013). رازیانه عمدتاً به منظور استفاده از اسانس (آنتول) حاصل از آن در صنایع مختلف دارویی، غذایی، آرایشی و بهداشتی مورد کشت وکار قرار می‌گیرد (Darzi *et al.*, 2007).

در مطالعات قبلی، نقش مثبت کودهای آلی در افزایش عملکرد اسانس و فعالیت آنتی‌اکسیدانی رازیانه به اثبات رسیده است (Shahat *et al.*, 2011). در پژوهشی دیگر بر روی رازیانه، کاربرد کود زیستی موجب افزایش رشد رویشی، میزان کربوهیدرات، عملکرد اسانس و میزان آنتول اسانس شد (Mahfouz and Sharaf-Eldin, 2007).

1- *Eisenia foetida*

همچنین در مطالعه‌ای توسط مرادی و همکاران (Moradi *et al.*, 2011)، کاربرد کودهای آلی کمپوست و ورمی کمپوست باعث افزایش عملکرد اسانس و میزان آنتول در اسانس رازیانه شده است. هدف از این مطالعه، بررسی اثر ورمی‌کمپوست، کود حیوانی و قارچ مایکوریزا بر ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی رازیانه در شرایط گلخانه است.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی تأثیر ورمی‌کمپوست، کود حیوانی و قارچ مایکوریزا بر خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی رازیانه در شرایط گلخانه، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سال ۱۳۹۷ در گلخانه تحقیقاتی بنیاد تعاون شهرستان رودان واقع در استان هرمزگان (دوره نوری ۱۲ ساعته و دمای بین ۲۶-۲۳ درجه سانتی‌گراد) انجام گردید. تیمارهای آزمایش شامل ورمی‌کمپوست (صفر، ۴ و ۸ درصد حجمی گلدان)، کود حیوانی (صفر، ۷/۵ و ۱۵ درصد حجمی گلدان) و قارچ مایکوریزا (تلقیح و عدم تلقیح)، مجموعاً شامل ۱۸ تیمار، در ۳ تکرار، از هر تکرار ۵ گیاه و در مجموع ۵۴ واحد آزمایشی در نظر گرفته شد. بذور در گلدان‌های ۵ لیتری کشت شدند. مایه تلقیح قارچ مایکوریزایی به صورت اندام فعال قارچی (پروپاگول) شامل اسپور هایف و ریسه گونه *Glomus intraradices* در تیمارهای تلقیح استفاده گردید. تیمار با قارچ مایکوریزایی به‌صورت تلقیح بذر انجام شد. قبل از شروع آزمایش خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک گلدان‌ها، ورمی‌کمپوست و کود حیوانی تعیین گردید (جدول ۱) (Gholami *et al.*, 2018). صفات مورد بررسی شامل ارتفاع بوته، تعداد شاخه در بوته، تعداد چتر در بوته، تعداد گل در بوته، تعداد دانه در بوته، وزن هزاردانه، وزن دانه در بوته، وزن تر و خشک ریشه و گیاه، فنول کل، فلاونوئید کل، فعالیت آنتی-اکسیدانی، درصد اسانس و درصد کلونیزاسیون ریشه بود. جهت تعیین وزن خشک، نمونه‌ها به‌مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۸۰ درجه سلسیوس قرار گرفتند که پس از این مدت وزن خشک آن‌ها محاسبه شد.

برای اندازه‌گیری درصد همزیستی ریشه‌ها با مایکوریزا، ریشه‌ها به دقت با آب مقطر شستشو شد و از محلول تثبیت ریشه‌ها[1] استفاده گردید. مراحل رنگ بری ریشه‌ها و سپس رنگ‌آمیزی آن‌ها طبق روش فیلیپس و هیمن (Giovannetti and Mosse, 1980) صورت گرفت. ابتدا برای بی‌رنگ کردن ریشه‌ها از محلول ده درصد KOH به مدت ۳ ساعت استفاده شد و سپس نمونه‌ها با آب مقطر به خوبی شستشو شدند. برای رنگ‌آمیزی ریشه‌ها از محلول نیم درصد تریپان بلو در لاکتوگلیسرول استفاده گردید.

1- Formalin Acetic Acid Allcohol

جدول ۱- خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک گلدان، ورمی‌کمپوست و کود حیوانی مورد استفاده

Table 1- Physiochemical properties of the soil, vermicompost and animal manure used

خاک Soil	بافت خاک Soil texture	شن Sand (%)	سیلت Silt (%)	رس Clay (%)	کلر Cl (meq.L^{-1})	سدیم Na (mg.L^{-1})	منیزیم Mg (mg.L^{-1})	کلسیم Ca (mg.L^{-1})	نیکل Ni (mg.L^{-1})	آهن Fe (mg.L^{-1})	مس Cu (mg.L^{-1})	منگنز Mn (mg.L^{-1})	روی Zn (mg.L^{-1})	پتاسیم K (mg.L^{-1})	فسفر P (mg.L^{-1})	ازت N (%)	کربن آلی OC (%)	پی-هاش pH	شوری EC (dS.m^{-1})	درصد اشباع SP (%)	عمق Depth (cm)
ورمی‌کمپوست Vermicompost	Sandy	78	12	10	0.7	12	5	4	0.78	8.1	0.83	8.87	2.64	310	4.6	0.02	1.98	7.42	1.38	22	0-30
کود حیوانی Animal manure	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2960	60	392	132	230	3500	6.72	26	7.02	4.50	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1870	35	356	92	180	2630	4.60	18	7.23	5.11	-	-

به منظور تعیین درصد همزیستی قارچ مایکوریزا با ریشه رازیانه، از روش خطوط متقاطع[1] استفاده شد. بدین صورت که ریشه‌های رنگ‌آمیزی شده به قطعات یک سانتی‌متری برش داده شدند و به همراه محلول رنگ‌بر لاکتوگلیسرول روی پلیت شیشه‌ای قرار داده شدند. سپس قطعات ریشه از نظر وجود اندام‌های قارچی در محل تلاقی خطوط افقی و عمودی کاغذ شطرنجی مورد شمارش قرار گرفت و نتایج به صورت درصد بیان گردید.

اندازه‌گیری میزان فنول کل با استفاده از معرف فولین انجام شد (Wojdyło *et al.*, 2007). بدین منظور، ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره الکلی هر نمونه (۱ گرم نمونه به ۵ میلی‌لیتر متانول ۷۰ درصد) با ۲۰۰ میکرولیتر فولین ۵۰ درصد مخلوط و ۲۰۰۰ میکرولیتر آب مقطر مخلوط شد. پس از ۳ دقیقه از اضافه کردن آب مقطر، ۱۰۰۰ میکرولیتر کربنات‌سدیم ۲۰ درصد به محلول اضافه و بعد از کمی هم زدن نمونه‌ها، یک ساعت در شرایط اتاق و در تاریکی نگهداری شدند. سپس جذب نمونه‌ها با استفاده از روش اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۷۶۵ نانومتر قرائت شد. از منحنی استاندارد گالیک‌اسید جهت تعیین میزان فنول کل در نمونه‌ها استفاده شد.

اندازه‌گیری میزان فلاونوئید کل به روش رنگ سنجی کلرید آلومینیوم انجام شد. بدین ترتیب که ابتدا ۱ میلی‌لیتر از عصاره هر نمونه برداشته شده و سپس ۳۰۰ میکرولیتر نیتریت سدیم ۵ درصد به آن اضافه شد. بعد از گذشت ۵ دقیقه از اضافه کردن نیتریت‌سدیم، ۶۰۰ میکرولیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد اضافه و پس از گذشت ۶ دقیقه از اضافه کردن کلرید آلومینیوم، ۴ میلی‌لیتر سود ۱ نرمال اضافه شد. محلول فوق با استفاده از آب مقطر به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شده و در نهایت میزان جذب نور با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۵۱۰ نانومتر قرائت شد. از منحنی استاندارد کوئرستین جهت تعیین میزان فلاونوئید کل در نمونه‌ها استفاده شد (Menichini *et al.*, 2009).

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها با استفاده از آزمون DPPH و به روش اسپکتروفتومتری بر پایه کاهش رادیکال‌های آزاد انجام شد. برای این منظور ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره‌های تهیه شده با غلظت‌های متفاوت به ۵ میلی‌لیتر محلول DPPH (با غلظت ۰/۰۰۴ درصد) اضافه شد. محلول‌ها به مدت ۱۰ ثانیه به‌شدت تکان داده شده و سپس به مدت ۳۰ دقیقه جهت واکنش در دمای اتاق و در محیط تاریک نگهداری شدند و سپس جذب نمونه‌ها در طول‌موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید. در نهایت میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها با استفاده از رابطه زیر محاسبه و گزارش گردید (Oke *et al.*, 2009).

درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد = (عدد جذب شاهد/ (عدد جذب نمونه – عدد جذب شاهد) × ۱۰۰

رابطه ۱- اندازه‌گیری درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد

نمونه‌ها پس از خشک‌کردن در سایه توسط دستگاه کلونجر به مدت ۲ ساعت و ۳۰ دقیقه اسانس‌گیری شدند. جهت هر بار اسانس‌گیری میزان ۲۰ گرم از ماده گیاهی درون بالن ۲ لیتری ریخته و ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب به آن اضافه شد. اسانس‌های به‌دست‌آمده به‌صورت وزنی-وزنی (درصد) تعیین راندمان شده پس از آبگیری توسط سولفات سدیم خشک تا قبل از آنالیز در شرایط خنک و تاریک درون یخچال نگهداری شدند (Saharkhiz *et al.*, 2010). تجزیه اسانس نمونه‌های میوه رازیانه با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC) و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC-MS) انجام شد. تجزیه ترکیبات اسانس با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی (GS) Agilent Technologies مدل 7890 ساخت کشور آمریکا مجهز به ستون HP-5 به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرون انجام شد. برنامه‌ریزی حرارتی ستون از ۶۰ درجه سلسیوس شروع، به تدریج با سرعت ۳ درجه بر دقیقه افزایش یافت تا به ۲۱۰ درجه سلسیوس رسید. سپس افزایش دما تا ۲۴۰ درجه سلسیوس با سرعت ۲۰ درجه بر دقیقه انجام گرفت و به‌مدت ۸/۵ دقیقه در دمای نهایی نگه داشته شد. دمای محفظه تزریق ۲۸۰ درجه سلسیوس بود. از گاز نیتروژن به عنوان گاز حامل استفاده شد که فشار ورودی گاز برابر ۱ میلی‌متر بر دقیقه تنظیم شد. جهت شناسایی ترکیبات موجود در اسانس از کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی Agilent Technologies مدل 5975 دارای ستون HP-5MS به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۳۲ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرون استفاده شد. برنامه‌ریزی حرارتی ستون شبیه به برنامه‌ریزی ستون دستگاه GC بود. دمای محفظه تزریق ستون (۲۸۰ درجه سلسیوس) تنظیم شد. انرژی یونیزاسیون معادل ۷۰ الکترون ولت بود. دمای دتکتور مورد استفاده ۲۸۰ درجه سلسیوس تنظیم شد، نوع گاز حامل هلیوم با فشار ورودی یک میلی‌لیتر در دقیقه بود.

تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۴ انجام گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد گزارش گردید. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel 2016 استفاده شد.

نتایج

1- Grid line Intersect Method

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر ورمی‌کمپوست، کود حیوانی و قارچ مایکوریزا بر برخی خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه رازیانه

Table 2- ANOVA for the effect of vermicompost, animal manure and mycorrhiza on some morphophysiological and biochemical characteristics of fennel

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی Df	میانگین مربعات Mean squares								
		ارتفاع بوته Plant height	تعداد شاخه در بوته Number of branches/plant	تعداد چتر در بوته Number of umbrellas/plant	تعداد گل در بوته flower number/plant	تعداد دانه در بوته Number of seeds/plant	وزن هزار دانه 1000-seed weight	وزن دانه در بوته Seed weight/plant	وزن تر گیاه Plant fresh weight	وزن خشک گیاه Plant dry weight
ورمی‌کمپوست Vermicompost (V)	2	591.46 **	2.32 **	0.48 **	937053 **	116296.7 **	0.04 **	0.42 **	108.13 **	2.29 **
کود حیوانی Animal (AM) manure	2	626.24 **	2.5 **	1.86 **	919895.4 **	73563.6 **	0.0096 **	0.24 **	57.06 **	1.19 **
مایکوریزا Mycorrhiza (M)	1	342.51 **	1.63 **	1.74 **	813525.6 **	50416.6 **	0.027 **	0.17 **	68.45 **	1.42 **
V × AM	4	4.32 ns	0.05 ns	0.07 **	243429 **	7592.4 **	0.00087 ns	0.0099 *	1.23 ns	0.019 ns
V × M	2	10.68 *	0.01 ns	0.06 *	152698.6 **	1825.05 **	0.0002 ns	0.0121 *	0.3 ns	0.008 ns
AM × M	2	2.9 ns	0.04 ns	0.17 **	84482.7 **	8015.7 **	0.00009 ns	0.0047 ns	6.74 **	0.141 **
V × AM × M	4	10.65 *	0.02 ns	0.04 *	185227.6 **	1125.6 **	0.00018 ns	0.0027 ns	2.6 ns	0.049 ns
خطا Error	36	3.03	0.04	0.017	27.29	19.85	0.00041	0.0029	1	0.022
ضریب تغییرات C.V (%)	-	2.99	2.27	2.48	0.2	0.22	1.63	2.3	0.85	0.87

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

ns, * and **: non-significance and significant at 5 and 1% of probability levels, respectively

ادامه جدول ۲- تجزیه واریانس اثر ورمی‌کمپوست، کود حیوانی و قارچ مایکوریزا بر برخی خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه رازیانه

Continued Table 2- ANOVA for the effect of vermicompost, animal manure and mycorrhiza on some morphophysiological and biochemical characteristics of fennel

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی Df	میانگین مربعات Mean squares						
		وزن تر ریشه Root fresh weight	وزن خشک ریشه Root dry weight	فنول کل Total phenol	فلاونوئید کل Total flavonoid	آنتی‌اکسیدان Antioxidant	درصد اسانس Essential oil content	کلونیزاسیون root colonization
ورمی‌کمپوست Vermicompost (V)	2	9.86 **	0.24 **	373.6 **	924.6 **	433.4 **	1.24 **	106.64 **
کود حیوانی Animal (AM) manure	2	9.46 **	0.23 **	607.2 **	930.38 **	376.32 **	4.23 **	30.24 **
مایکوریزا Mycorrhiza (M)	1	1.83 **	0.045 **	427.8 **	824.46 **	290.27 **	3.45 **	212.37 **
V × AM	4	0.28 **	0.0072 **	10.5 *	3.47 ns	17.41 **	0.023 ns	8.38 **
V × M	2	0.064 **	0.0014 *	2.07 ns	9.4 *	3.8 ns	0.027 ns	2.54 *
AM × M	2	0.017 ns	0.00042 ns	31.12 **	94.7 **	1.45 ns	0.034 ns	6.14 **
V × AM × M	4	0.034 *	0.00088 *	4.18 ns	6.15 *	1.38 ns	0.030 ns	10.43 **
خطا Error	36	0.011	0.00029	2.75	2.2	2.86	0.016	0.74
ضریب تغییرات C.V (%)	-	1.14	1.13	2.62	0.93	4.12	4.45	3.3

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

ns, * and **: non-significance and significant at 5 and 1% of probability levels, respectively.

نتایج این مطالعه نشان داد، برهمکنش ورمی‌کمپوست، کود حیوانی و قارچ مایکوریزا بر صفات ارتفاع بوته، تعداد چتر در بوته، تعداد گل در بوته، تعداد دانه در بوته، وزن تر و خشک ریشه، فلاونوئید کل و درصد کلونیزاسیون معنی‌دار است. با این حال برهمکنش این سه عامل بر سایر صفات معنی‌دار نبود (جدول ۲). نتایج این بررسی نشان داد، برهمکنش ورمی کمپوست و کود حیوانی بر وزن دانه در بوته، فنول کل و درصد فعالیت آنتی‌اکسیدان معنی‌دار است. همچنین نتایج این تحقیق حاکی از معنی‌دار بودن برهمکنش ورمی کمپوست و قارچ مایکوریزا بر وزن دانه در بوته بود. افزون بر این، وزن تر و خشک گیاه و همچنین محتوای فنول کل در اندام هوایی گیاه تحت تأثیر برهمکنش کود حیوانی و قارچ مایکوریزا قرار گرفت (جدول ۲). در این مطالعه، اثر ساده ورمی کمپوست بر تعداد شاخه در بوته، وزن هزار دانه، وزن تر و خشک گیاه و درصد اسانس در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. اثر ساده کود حیوانی بر صفات تعداد شاخه در بوته، وزن هزار دانه و درصد اسانس معنی‌دار ($p\leq 0.01$) گردید. همچنین تعداد شاخه در بوته، وزن هزار دانه، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و درصد اسانس نیز به طور معنی‌داری تحت تأثیر کاربرد قارچ مایکوریزا قرار گرفتند (جدول ۲).

نتایج مقایسه میانگین نشان داد کاربرد ورمی‌کمپوست، کود حیوانی و قارچ مایکوریزا باعث افزایش ارتفاع گیاه و تعداد چتر در بوته می‌شوند. بر اساس نتایج به دست آمده بالاترین ارتفاع (۷۷/۳۳ سانتی‌متر) و تعداد چتر در بوته (۶/۱۶ عدد)، پس از کاربرد تلفیقی ۸ درصد در گلدان ورمی کمپوست، ۱۵ درصد در گلدان کود حیوانی و تلقیح مایکوریزا به دست آمد (جدول ۳).

نتایج نشان داد کاربرد تلفیقی ۸ درصد در گلدان ورمی کمپوست، ۱۵ درصد در گلدان کود حیوانی و تلقیح مایکوریزا در مقایسه با سایر تیمارهای کودی باعث افزایش تعداد گل در بوته رازیانه گردید. به‌طوری که بالاترین تعداد گل در بوته با میانگین ۳۸۰۴/۳ عدد در این تیمار مشاهده گردید. در این پژوهش زمانی که از منابع کودی استفاده نشد (تیمار شاهد)، کمترین تعداد گل در بوته (با میانگین ۲۱۱۹/۳ عدد) حاصل گردید (جدول ۳).

همچنین بیشترین تعداد دانه در بوته (۲۰۵۴ عدد) پس از کاربرد تلفیقی ۸ درصد در گلدان ورمی کمپوست، ۱۵ درصد در گلدان کود حیوانی و تلقیح قارچ مایکوریزا حاصل گردید. با این حال پس از کاربرد تیمار شاهد، کمترین تعداد دانه در بوته (۱۷۱۷ عدد) مشاهده شد (جدول ۳).

به‌طور کلی کاربرد ورمی‌کمپوست، کود حیوانی و مایکوریزا باعث افزایش وزن تر و خشک ریشه در گیاه شد. در بین تیمارهای مورد استفاده، کاربرد تلفیقی ۸ درصد در گلدان ورمی کمپوست، ۱۵ درصد در گلدان کود حیوانی و تلقیح مایکوریزا، بالاترین اثر را از این جنبه داشت. به‌طوری که میزان وزن تر و خشک ریشه در این تیمار به ترتیب با میانگین‌های ۱۱/۱۹ و ۱/۷۷ گرم به دست آمد. در این پژوهش زمانی که از منابع کودی استفاده نشد (تیمار شاهد)، کمترین وزن تر و خشک ریشه (به ترتیب با میانگین‌های ۷/۹ و ۱/۲۵ گرم) حاصل گردید (جدول ۳).

میزان فلاونوئید کل در اندام هوایی گیاه تحت تأثیر برهم‌کنش ورمی‌کمپوست، کود حیوانی و مایکوریزا قرار گرفت و تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده گردید. نتایج نشان داد بالاترین میزان فلاونوئید کل در گیاه (۱۷۷/۶۶ میلی‌گرم در صد گرم ماده خشک) در تیمار کاربرد تلفیقی ۸ درصد در گلدان ورمی کمپوست، ۱۵ درصد در گلدان کود حیوانی و استفاده از قارچ مایکوریزا حاصل شد. کمترین میزان فلاونوئید کل (۱۴۰/۶ میلی‌گرم در صد گرم ماده خشک) مربوط به تیمار شاهد بود (جدول ۳).

نتایج این پژوهش نشان داد درصد کلونیزاسیون ریشه به‌شدت تحت تأثیر کاربرد تلفیقی ورمی‌کمپوست، کود حیوانی و مایکوریزا قرار گرفت. بیشترین (با میانگین ۳۵/۸ درصد) و کمترین (با میانگین‌های ۲۱/۰۳ و ۲۲/۳ درصد) درصد کلونیزاسیون به ترتیب در تیمارهای کاربرد تلفیقی ۸ درصد در گلدان ورمی کمپوست، ۷/۵ درصد در گلدان کود حیوانی و استفاده از قارچ مایکوریزا و شاهد و کاربرد ۷/۵ درصد در گلدان کود حیوانی به تنهایی (بدون اختلاف معنی‌دار با تیمار شاهد) حاصل گردید (جدول ۳).

در این پژوهش اثر متقابل ورمی‌کمپوست، کود حیوانی و مایکوریزا بر تعداد شاخه در بوته معنی‌دار نبود. با این حال اثر ساده هر کدام از این عامل ها در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار گردید (جدول ۲). نتایج نشان داد با افزایش غلظت ورمی‌کمپوست، کود حیوانی و استفاده از مایکوریزا، تعداد شاخه در بوته نیز به مراتب افزایش پیدا می‌کند. کاربرد ۸ درصد در گلدان ورمی کمپوست نسبت به سایر تیمارهای ورمی کمپوست باعث افزایش معنی‌دار تعداد شاخه در بوته شد. همچنین پس از اعمال تیمار ۱۵ درصد در گلدان کود حیوانی، بیشترین تعداد شاخه در بوته با میانگین ۹/۶۷ عدد حاصل شد. استفاده از مایکوریزا تعداد شاخه در بوته را به طور معنی‌داری تا ۹/۴۶ عدد افزایش داد (شکل ۱).

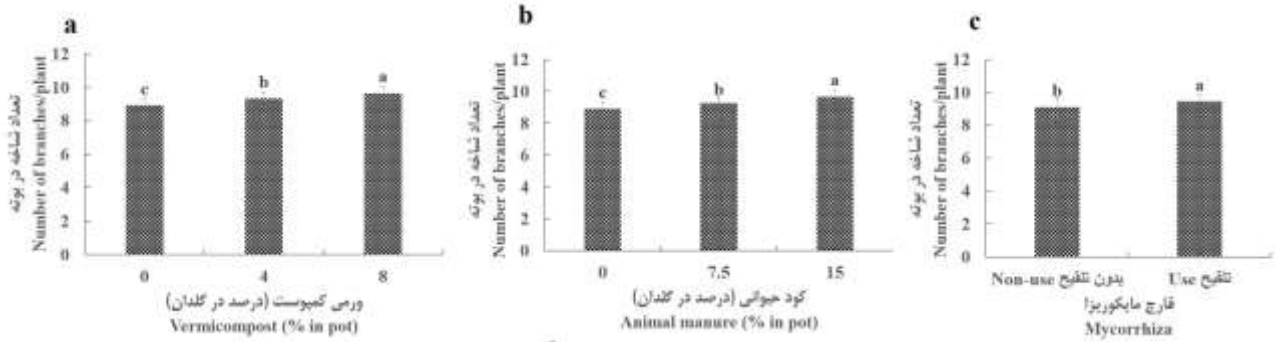
جدول ۳- اثر متقابل ورمی‌کمپوست× کود حیوانی × قارچ مایکوریزا بر برخی خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه رازیانه

Table 3- The interaction effect of vermicompost× animal manure ×mycorrhiza on some morphophysiological and biochemical characteristics of fennel plant

ورمی کمپوست Vermicompost (% in pot volume)	کود حیوانی Animal manure (% in pot)	مایکوریزا Mycorrhiza	ارتفاع بوته Plant height (cm)	تعداد چتر در بوته Number of umbrellas/plant	تعداد گل در بوته flower number/plant	تعداد دانه در بوته Number of seeds/plant	وزن تر ریشه Root fresh weight (g)	وزن خشک ریشه Root dry weight (g)	فلاونوئید کل Total flavonoid (mg.100g^{-1} DW)	کلونیزاسیون Colonization (%)
			Mean میانگین							
0	0	Non-use	44.33 ^{l}	4.73 ^{h}	2119.3 ^{o}	1717 ^{n}	7.9 ^{k}	1.25 ^{k}	140.6 ^{h}	21.03 ^{j}
		Use	51.33 ^{k}	5 ^{g}	2317 ^{l}	1831.7 ^{l}	8.43 ^{j}	1.33 ^{j}	148 ^{g}	24.7 ^{g}
	7.5	Non-use	47 ^{l}	4.96 ^{g}	2205.3 ^{n}	1824 ^{m}	8.4 ^{j}	1.32 ^{j}	146.3 ^{g}	22.3 ^{ij}
		Use	55 ^{hi}	5.16 ^{efg}	2395.3 ^{i}	1848 ^{k}	9 ^{h}	1.42 ^{h}	152.3 ^{f}	25.3 ^{fg}
	15	Non-use	58 ^{fg}	5.53 ^{c}	2323.3 ^{l}	1939.3 ^{h}	9 ^{h}	1.42 ^{h}	151.6 ^{f}	23.2 ^{hi}
		Use	62 ^{cde}	5.8 ^{b}	2400.3 ^{i}	2006 ^{f}	9.37 ^{g}	1.48 ^{g}	166 ^{c}	27.03 ^{cde}
4	0	Non-use	51.66 ^{jk}	5.06 ^{g}	2253.7 ^{m}	1861.3 ^{j}	8.66 ^{i}	1.37 ^{i}	147.3 ^{g}	22.5 ^{hi}
		Use	54.33 ^{ij}	5.16 ^{efg}	2421.7 ^{h}	1988 ^{g}	9.06 ^{h}	1.43 ^{h}	153.6 ^{ef}	26.5 ^{def}
	7.5	Non-use	52 ^{jk}	5.13 ^{fg}	2343.3 ^{k}	1927 ^{i}	9.83 ^{f}	1.55 ^{f}	155.6 ^{e}	23.9 ^{gh}
		Use	59.33 ^{efg}	5.5 ^{cd}	2497.3 ^{f}	2011.3 ^{ef}	9.96 ^{ef}	1.57 ^{ef}	158.6 ^{d}	27.13 ^{cde}
	15	Non-use	60.66 ^{def}	5.4 ^{cd}	2630 ^{d}	2027 ^{e}	10.11 ^{e}	1.6 ^{de}	158.6 ^{d}	14.7 ^{p}
		Use	67 ^{b}	6 ^{ab}	2680.3 ^{c}	2045.7 ^{b}	10.56 ^{e}	1.67 ^{c}	173 ^{b}	28.2 ^{c}
8	0	Non-use	57.33 ^{gh}	5.16 ^{efg}	2383.7 ^{j}	1931.7 ^{i}	9.03 ^{h}	1.43 ^{h}	158.3 ^{d}	24.6 ^{g}
		Use	60 ^{efg}	5.3 ^{def}	2500 ^{f}	2019.3 ^{d}	9.3 ^{g}	1.47 ^{g}	160.6 ^{d}	27.9 ^{cd}
	7.5	Non-use	63.33 ^{cd}	5.33 $^{c-f}$	2448 ^{g}	2017.7 ^{de}	10.13 ^{de}	1.6 ^{de}	160.6 ^{d}	26.2 ^{ef}
		Use	64.66 ^{bc}	5.83 ^{b}	2620.7 ^{e}	2030.7 ^{c}	10.29 ^{d}	1.62 ^{d}	166.6 ^{c}	35.8 ^{a}
	15	Non-use	67.33 ^{b}	5.36 ^{cde}	2721 ^{b}	2039.7 ^{b}	10.8 ^{b}	1.7 ^{b}	167 ^{c}	28.03 ^{c}
		Use	77.33 ^{a}	6.16 ^{a}	3804.3 ^{a}	2054 ^{a}	11.19 ^{a}	1.77 ^{a}	177.66 ^{a}	29.7 ^{b}

در هر ستون، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، در سطح احتمال پنج درصد ، بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن، با یکدیگر تفاوت معنی‌دار ندارند.

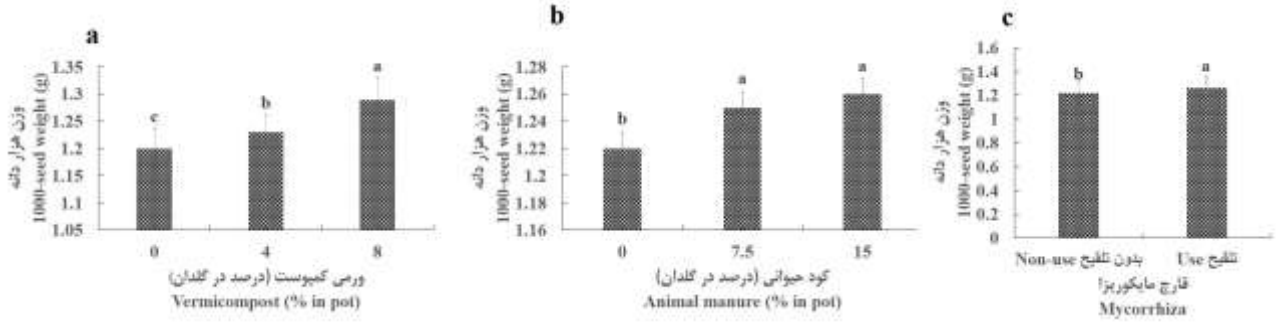
Means followed by the same letter within a column are not significantly difference according to Duncan's multiple range test at $p< 0.05$.



شکل ۱- اثر ساده ورمی‌کمپوست (a)، کود حیوانی (b) و قارچ مایکوریزا (c) بر تعداد شاخه در بوته در گیاه رازیانه

Figure 1- The effect of vermicompost (a), animal manure (b) and mycorrhiza (c) on number of branches per plant in fennel. (DMRT, $p\leq0.05$)

نتایج این پژوهش نشان داد با افزایش غلظت ورمی کمپوست، کود حیوانی و استفاده از مایکوریزا، وزن هزار دانه نیز به طور معنی‌داری افزایش پیدا می‌کند. کاربرد ۸ درصد در گلدان ورمی کمپوست نسبت به سایر تیمارهای ورمی کمپوست باعث افزایش معنی‌دار (۱/۲۹ گرم) وزن هزار دانه شد. پس از اعمال تیمار ۱۵ درصد در گلدان کود حیوانی، بیشترین وزن هزار دانه با میانگین ۱/۲۶ گرم حاصل شد. همچنین استفاده از مایکوریزا وزن هزار دانه را به طور معنی‌داری تا ۱/۲۶ گرم افزایش داد که اختلاف معنی‌داری از نظر آماری با سایر تیمارها نشان داد (شکل ۲).

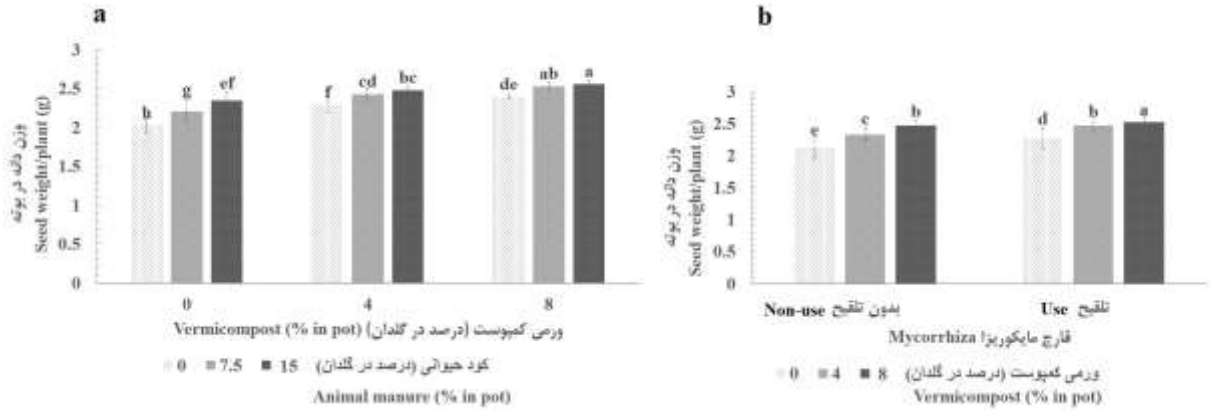


شکل ۲- اثر ساده ورمی‌کمپوست (a)، کود حیوانی (b) و قارچ مایکوریزا (c) بر وزن هزار دانه در گیاه رازیانه

Figure 2- The effect of vermicompost (a), animal manure (b) and mycorrhiza (c) on 1000-seed weight in fennel. (DMRT, $p\leq0.05$)

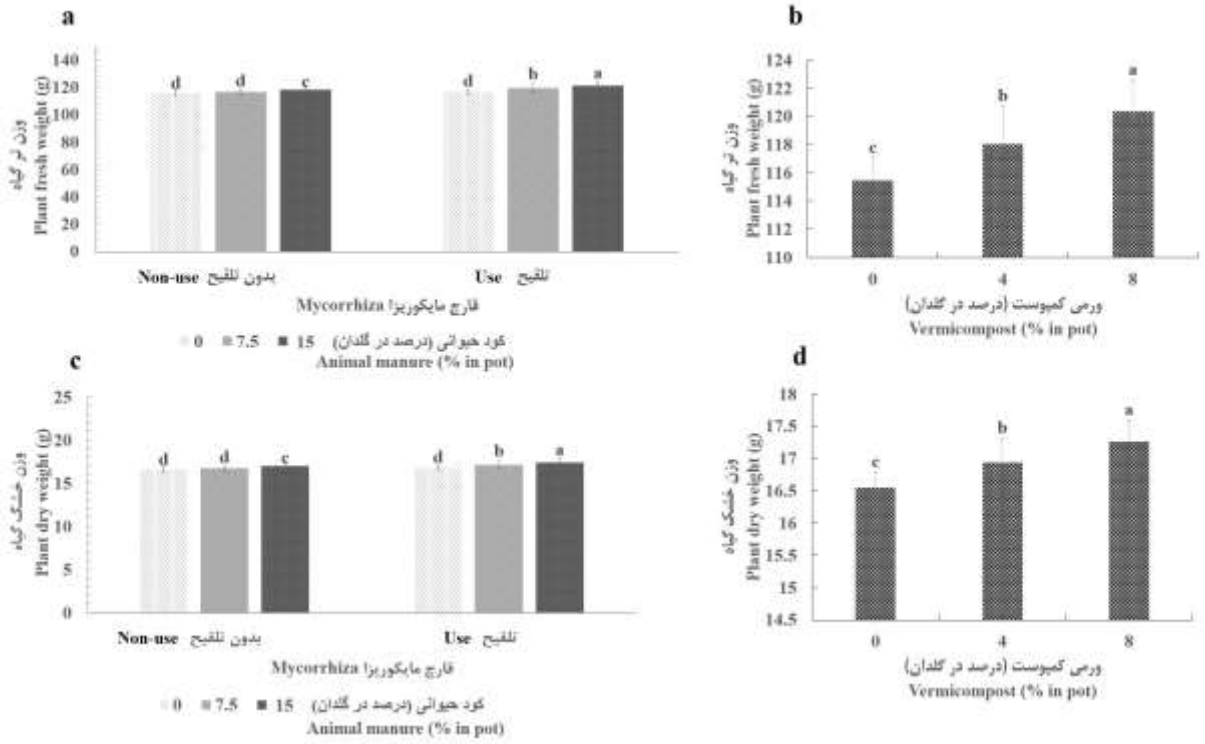
در این تحقیق، وزن دانه در بوته به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر مصرف ورمی‌کمپوست و کود حیوانی قرار گرفت. بر اساس نتایج به دست آمده بالاترین وزن دانه در بوته (۲/۵۶ و ۲/۵۳ گرم)، به ترتیب پس از کاربرد تلفیقی ۸ درصد در گلدان ورمی کمپوست به همراه ۱۵ و ۷/۵ درصد در گلدان کود حیوانی به دست آمد که اختلاف معنی‌داری از نظر آماری بین آن‌ها مشاهده نشد. علاوه بر این، کمترین وزن دانه در بوته (۲/۰۳ گرم) مربوط به تیمار شاهد بود. بر اساس نتایج، به تدریج با افزایش غلظت ورمی‌کمپوست و استفاده از مایکوریزا، وزن دانه در بوته نیز به‌طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد. بالاترین وزن دانه در بوته با میانگین ۲/۵۲ گرم، پس از تلقیح قارچ مایکوریزا به همراه ۸ درصد در گلدان ورمی‌کمپوست مشاهده گردید (شکل ۳).

نتایج این مطالعه نشان داد بیشترین وزن تر و خشک گیاه (به ترتیب با میانگین‌های ۱۲۱/۳۳ و ۱۷/۴۱ گرم) پس از کاربرد تلفیقی مایکوریزا و ۱۵ درصد در گلدان کود حیوانی حاصل گردید؛ که اختلاف معنی‌داری از نظر آماری با سایر تیمارها داشت. همچنین با افزایش غلظت ورمی کمپوست، وزن تر و خشک گیاه نیز به مراتب افزایش پیدا کرد. کاربرد ۸ درصد در گلدان ورمی کمپوست نسبت به سایر تیمارهای ورمی کمپوست باعث افزایش معنی‌دار وزن تر و خشک گیاه به ترتیب با میانگین‌های ۱۲۰/۳۶ و ۱۷/۲۶ گرم شد (شکل ۴).



شکل ۳- اثر برهمکنش ورمی‌کمپوست × کود حیوانی (a) و ورمی‌کمپوست × مایکوریزا (b) بر وزن دانه در بوته رازیانه

Figure 3- The interaction effect of vermicompost × animal manure (a) and vermicompost × mycorrhiza (b) on seed weight/plant in fennel.
(DMRT, *p≤0.05*)

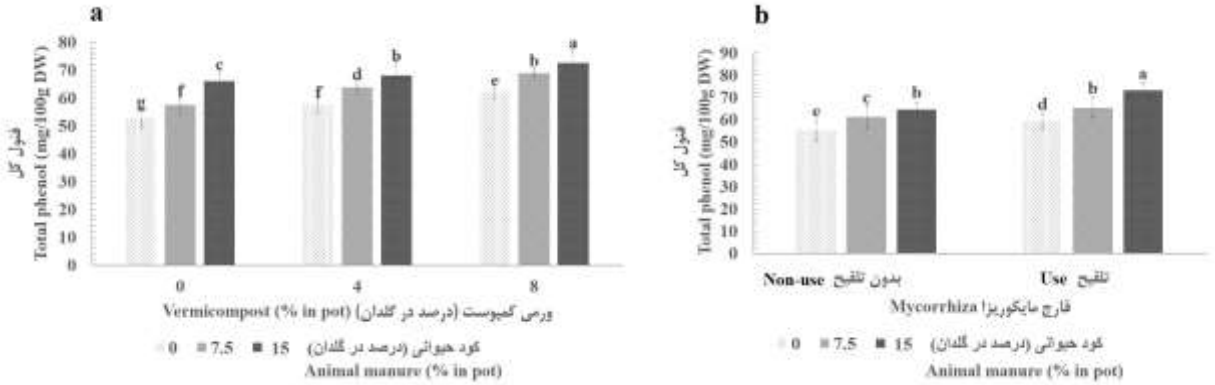


شکل ۴- اثر برهمکنش کود حیوانی × مایکوریزا و اثر ساده ورمی‌کمپوست بر وزن تر (به ترتیب، a و b) و خشک (به ترتیب، c و d) رازیانه

Figure 4- The interaction effect of animal manure × mycorrhiza and the effect of vermicompost on plant fresh weight (a and b, respectively) and plant dry weight (c and d, respectively) of fennel.
(DMRT, *p≤0.05*)

نتایج اثر برهمکنش کودهای ورمی‌کمپوست و کود حیوانی بر محتوای فنول کل در اندام هوایی رازیانه نشان داد بالاترین محتوای فنول کل در اندام هوایی با میانگین ۷۲/۶۶ میلی‌گرم در صد گرم ماده خشک پس از کاربرد تلفیقی ۸ درصد در گلدان ورمی کمپوست و ۱۵ درصد در گلدان کود حیوانی حاصل گردید. پس از کاربرد تیمار شاهد، کمترین محتوای فنول کل در اندام هوایی (۵۲/۵ میلی گرم در صد

گرم ماده خشک) مشاهده شد. همچنین با افزایش غلظت کود حیوانی و کاربرد مایکوریزا، محتوای فنول کل در اندام هوایی نیز به مراتب افزایش یافت. کاربرد مایکوریزا در ترکیب با ۱۵ درصد در گلدان کود حیوانی نسبت به سایر تیمارها باعث افزایش معنی‌دار محتوای فنول کل در اندام هوایی با میانگین ۷۳/۲۲ میلی‌گرم در صد گرم ماده خشک شد (شکل ۵).

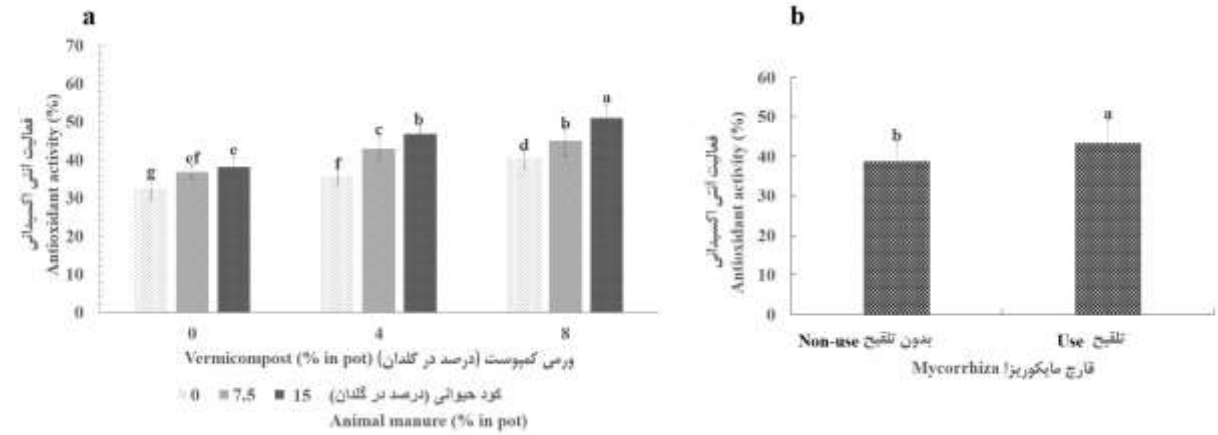


شکل ۵- اثر برهمکنش ورمی‌کمپوست × کود حیوانی (a) و کود حیوانی و مایکوریزا (b) بر محتوای فنول کل در اندام هوایی رازیانه

Figure 5- The interaction effect of vermicompost × animal manure (a) and animal manure × mycorrhiza (b) on total phenol in aerial parts of fennel.

(DMRT, $p \leq 0.05$)

افزون بر این، نتایج این مطالعه نشان داد بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۵۱ درصد) پس از کاربرد تلفیقی ۸ درصد در گلدان ورمی کمپوست و ۱۵ درصد در گلدان کود حیوانی حاصل گردید. همچنین پس از کاربرد تیمار شاهد، کمترین میزان شاخص فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۳۲/۴۶ درصد) مشاهده شد. درصد فعالیت آنتی‌اکسیدان به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر کاربرد قارچ مایکوریزا قرار گرفت. استفاده از قارچ مایکوریزا، باعث افزایش معنی‌دار درصد فعالیت آنتی‌اکسیدان شد. کمترین و بیشترین درصد فعالیت آنتی‌اکسیدان با میانگین های ۳۸/۷۲ و ۴۳/۳۵ درصد به ترتیب مربوط به تیمارهای عدم تلقیح و تلقیح گیاهان با مایکوریزا بود (شکل ۶).



شکل ۶- اثر برهمکنش ورمی‌کمپوست × کود حیوانی (a) و اثر ساده مایکوریزا (b) بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی اندام هوایی رازیانه

Figure 6- The interaction effect of vermicompost × animal manure (a) and the effect of mycorrhiza (b) on antioxidant activity in aerial parts of fennel.

(DMRT, $p \leq 0.05$)

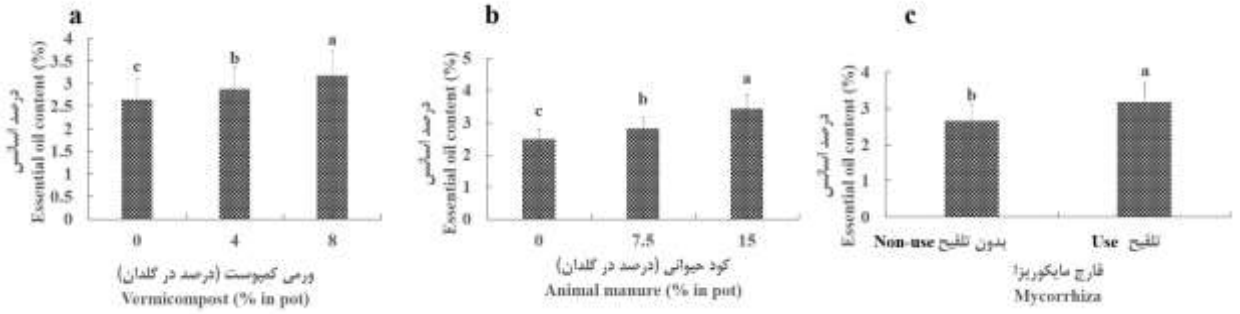
در تحقیق حاضر اثر متقابل ورمی‌کمپوست، کود حیوانی و مایکوریزا در شرایط گلخانه بر درصد اسانس میوه رازیانه معنی‌دار نبود. اثر ساده هر کدام از این عامل ها در سطح احتمال ۱ درصد بر صفت مورد نظر معنی‌دار بود. نتایج نشان داد با افزایش غلظت ورمی کمپوست، کود حیوانی و استفاده از مایکوریزا، درصد اسانس میوه نیز به طور معنی‌داری افزایش پیدا می‌کند. کاربرد ۸ درصد در گلدان

ورمی کمپوست نسبت به سایر تیمارهای ورمی کمپوست باعث افزایش معنی‌دار (۳/۱۸ درصد) اسانس میوه شد. پس از اعمال تیمار ۱۵ درصد در گلدان کود حیوانی، بیشترین درصد اسانس میوه با میانگین ۳/۴۳ درصد حاصل گردید. استفاده از مایکوریزا درصد اسانس میوه را به طور معنی‌داری تا ۳/۱۶ درصد افزایش داد که اختلاف معنی‌داری از نظر آماری با سایر تیمارها نشان داد (شکل ۷).

جدول ۴- ترکیبات شناسایی شده در اسانس میوه رازیانه کشت شده در شرایط گلخانه

Table 4- Compounds identified in essential oil of fennel fruit grown under greenhouse conditions

شماره No.	نام ترکیب Composition name	شاخص بازداری Retention index (RI)
1	a-Thujene	927
2	a-Pinene	935
3	Camphene	950
4	Sabinene	975
5	b-Pinene	979
6	Myrcene	991
7	a-Phellandrene	1007
8	p-Cymene	1025
9	Limonene	1028
10	1,8-Cineole	1031
11	(Z)-b-Ocimene	1037
12	(E)-b-Ocimene	1047
13	g-Terpinene	1059
14	cis-Sabinene hydrate	1069
15	Fenchone	1090
16	Linalool	1098
17	Unknown	1106
18	Unknown	1126
19	allo-Ocimene	1129
20	Unknown	1141
21	Camphor	1147
22	Unknown	1174
23	Terpinen-4-ol	1178
24	Methyl chavicol	1196
25	endo-Fenchyl acetate	1223
26	exo-Fenchyl acetate	1236
27	(Z)-Anethole	1256
28	p-Anisaldehyde-dimethyl acetal	1262
29	(E)-Anethole	1285
30	a-Terpinyl acetate	1351
31	Eugenol	1361
32	a-Copaene	1378
33	Unknown	1389
34	(E)-Caryophyllene	1422
35	(E)-b-Farnesene	1456
36	Germacrene D	1483
37	Unknown	1498
38	d-Cadinene	1525



شکل ۷- اثر ساده ورمی‌کمپوست (a)، کود حیوانی (b) و قارچ مایکوریزا (c) بر درصد اسانس میوه رازیانه

Figure 7- The effect of vermicompost (a), animal manure (b) and mycorrhiza (c) on essential oil content of fennel. (DMRT, $p \leq 0.05$)

جداول ۴ و ۵، اثر ورمی‌کمپوست، کود حیوانی و قارچ مایکوریزا بر ترکیبات تشکیل دهنده اسانس میوه رازیانه در شرایط گلخانه نشان می‌دهد. نتایج این بررسی، امکان حضور یا عدم حضور ۳۸ ترکیب ترپنوئیدی در اسانس میوه را نشان می‌دهد. به طور کلی بالاترین درصد اجزای تشکیل‌دهنده اسانس میوه در شرایط گلخانه، به ترتیب مربوط به (E)-Anethole (با میانگین ۷۸/۲۶ درصد)، Fenchone (۷/۱۵ درصد)، Limonene (۶/۱۲ درصد) و Methyl chavicol (۳/۸۵ درصد) بود که به طور کلی بیش از ۹۵ درصد پروفایل اسانس میوه مربوط به این ۴ ترکیب بود (جدول ۵). با توجه به نتایج ارائه شده در تیمارها، پس از کاربرد تیمار شاهد، ۵ ترکیب در پروفایل اسانس شناسایی نشد. این ترکیبات شامل Linalool، a-Terpinyl acetate، Eugenol، (E)-Caryophyllene و (E)-b-Farnesene بودند. به طور کلی در این مطالعه، کاربرد ورمی‌کمپوست، کود حیوانی و مایکوریزا سبب تغییر در درصد ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس میوه رازیانه شد (جدول ۵). میزان (E)-Anethole به عنوان ترکیب غالب اسانس، در تیمار شاهد ۶۶/۹۲ درصد گزارش گردید. کاربرد تلفیقی مایکوریزا و ۴ درصد در گلدان ورمی کمپوست محتوای (E)-Anethole موجود در اسانس را تا ۸۰/۷۲ درصد افزایش داد؛ به طوری که بالاترین محتوای این ترکیب در اسانس میوه، مربوط به این تیمار بود. همچنین کمترین میزان (E)-Anethole در این پژوهش (۶۶/۹۲ درصد) مربوط به تیمار شاهد بود (جدول ۵).

جدول ۵- اثر متقابل کاربرد ورمی‌کمپوست× کود حیوانی × قارچ مایکوریزا بر ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس میوه رازیانه

Table 5- The interaction effect of vermicompost× animal manure ×mycorrhiza on concentrations of chemical compounds (%) identified in essential oil of fennel

ورمی کمپوست Vermicompost (% in pot volume)	کود حیوانی Animal manure (% in pot volume)	مایکوریزا Mycorrhiza	میانگین Means					
			a-Thujene	a-Pinene	Camphene	Sabinene	b-Pinene	Myrcene
0	0	Non-use	0.008	0.98	0.12	0.24	0.06	0.59
		Use	-	0.84	0.12	0.2	0.05	0.54
	7.5	Non-use	0.006	0.78	0.09	0.21	0.05	0.51
		Use	-	0.97	0.15	0.22	0.06	0.6
	15	Non-use	-	1.01	0.15	0.23	0.06	0.71
		Use	0.007	0.99	0.12	0.26	0.07	0.59
4	0	Non-use	-	0.76	0.1	0.2	0.05	0.52
		Use	0.004	0.82	0.12	0.21	0.06	0.54
	7.5	Non-use	0.006	0.89	0.11	0.23	0.06	0.56
		Use	0.006	0.86	0.13	0.2	0.06	0.62
	15	Non-use	-	0.86	0.13	0.21	0.06	0.59
		Use	0.009	0.93	0.11	0.24	0.06	0.53
8	0	Non-use	-	0.98	0.1	0.23	0.06	0.52
		Use	-	0.77	0.12	0.21	0.05	0.57
	7.5	Non-use	-	0.87	0.1	0.24	0.06	0.59
		Use	-	0.94	0.13	0.22	0.06	0.62
	15	Non-use	0.006	0.84	0.12	0.23	0.06	0.56
		Use	-	0.98	0.15	0.22	0.06	0.69

ادامه جدول ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل ورمی‌کمپوست، کود حیوانی و قارچ مایکوریزا بر ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس میوه رازیانه

***Continued* Table 5- Effect of vermicompost, animal manure and mycorrhiza on concentrations of chemical compounds (%) identified in essential oil of fennel**

ورمی کمپوست Vermicompost (% in pot volume)	کود حیوانی Animal manure (% in pot volume)	مایکوریزا Mycorrhiza	میانگین Means				
			a-Phellandrene	p-Cymene	Limonene	1,8-Cineole	(Z)-b-Ocimene
0	0	Non-use	0.18	0.03	6.84	0.11	1.32
		Use	0.14	0.03	5.43	0.06	1.22
	7.5	Non-use	0.12	0.03	5.86	0.13	1.09
		Use	0.15	0.03	5.53	0.13	1.12
	15	Non-use	0.16	0.04	6.58	0.41	1.09
		Use	0.14	0.04	6.68	0.009	1.2
4	0	Non-use	0.14	0.04	5.54	0.12	1.08
		Use	0.15	0.03	5.25	0.08	1.1
	7.5	Non-use	0.16	0.04	6.55	0.11	1.09
		Use	0.14	0.03	6.16	0.08	1.18
	15	Non-use	0.12	0.04	5.92	0.32	0.98
		Use	0.17	0.05	6.32	0.18	1.14
8	0	Non-use	0.12	0.06	5.93	0.16	1.11
		Use	0.13	0.03	5.2	0.22	1.03
	7.5	Non-use	0.12	0.03	7.5	0.05	1.15
		Use	0.15	0.05	6.27	0.02	1.006
	15	Non-use	0.13	0.04	6.28	0.07	1.07
		Use	0.15	0.05	6.41	0.03	1.09

ادامه جدول ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل ورمی‌کمپوست، کود حیوانی و قارچ مایکوریزا بر ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس میوه رازیانه

***Continued* Table 5- Effect of vermicompost, animal manure and mycorrhiza on concentrations of chemical compounds (%) identified in essential oil of fennel**

ورمی کمپوست Vermicompost (% in pot volume)	کود حیوانی Animal manure (% in pot volume)	مایکوریزا Mycorrhiza	میانگین Means					
			(E)-b-Ocimene	g-Terpinene	cis-Sabinene hydrate	Fenchone	Linalool	allo-Ocimene
0	0	Non-use	0.04	0.09	0.01	7.01	-	0.07
		Use	0.03	0.07	-	7.19	-	0.05
	7.5	Non-use	0.04	0.12	0.008	6.49	0.02	0.06
		Use	0.03	0.13	-	7.12	-	0.07
	15	Non-use	0.04	0.11	-	8.48	-	0.06
		Use	0.04	0.09	0.01	6.66	0.01	0.08
4	0	Non-use	0.04	0.11	-	6.38	-	0.05
		Use	0.04	0.1	0.01	6.64	0.02	0.06
	7.5	Non-use	0.04	0.18	-	6.16	0.03	0.06
		Use	0.04	0.09	0.01	8.2	-	0.07
	15	Non-use	0.03	0.12	-	7.53	-	0.07
		Use	0.04	0.18	-	5.82	-	0.11
8	0	Non-use	0.04	0.12	-	6.61	0.08	0.06
		Use	0.04	0.14	-	7.81	0.07	0.08
	7.5	Non-use	0.04	0.11	-	6.83	-	0.06
		Use	0.04	0.13	-	8.04	0.02	0.05
	15	Non-use	0.04	0.1	0.01	6.37	0.03	0.07
		Use	-	0.08	-	9.38	-	0.05

ادامه جدول ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل ورمی‌کمپوست، کود حیوانی و قارچ مایکوریزا بر ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس میوه رازیانه

***Continued* Table 5- Effect of vermicompost, animal manure and mycorrhiza on concentrations of chemical compounds (%) identified in essential oil of fennel**

ورمی کمپوست Vermicompost (% in pot volume)	کود حیوانی Animal manure (% in pot volume)	مایکوریزا Mycorrhiza	میانگین Means				
			Camphor	Terpinen-4-ol	Methyl chavicol	endo-Fenchyl acetate	exo-Fenchyl acetate
0	0	Non-use	0.17	0.02	14.54	0.02	0.09
		Use	0.17	0.02	3.37	0.02	0.09
	7.5	Non-use	0.17	0.02	3.41	0.02	0.08
		Use	0.16	-	3.21	-	0.08
	15	Non-use	0.19	-	3.31	-	0.09
		Use	0.16	-	3.19	0.02	0.08
4	0	Non-use	0.15	-	3.25	-	0.07
		Use	0.16	0.01	3.18	0.02	0.09
	7.5	Non-use	0.14	0.01	3.31	0.01	0.09
		Use	0.19	0.02	3.17	0.02	0.12
	15	Non-use	0.17	-	3.2	-	0.08
		Use	0.13	0.01	3.16	0.02	0.09
8	0	Non-use	0.21	-	3.26	-	0.10
		Use	0.22	-	3.1	-	0.13
	7.5	Non-use	0.16	-	3.22	-	0.12
		Use	0.20	0.02	3.15	-	0.09
	15	Non-use	0.17	0.01	3.06	0.02	0.1
		Use	0.20	-	3.24	-	0.1

ادامه جدول ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل ورمی‌کمپوست، کود حیوانی و قارچ مایکوریزا بر ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس میوه رازیانه

***Continued* Table 5- Effect of vermicompost, animal manure and mycorrhiza on concentrations of chemical compounds (%) identified in essential oil of fennel**

ورمی کمپوست Vermicompost (% in pot volume)	کود حیوانی Animal manure (% in pot volume)	مایکوریزا Mycorrhiza	میانگین Means				
			(Z)-Anethole	p-Anisaldehyde-dimethyl acetal	(E)-Anethole	a-Terpinyl acetate	Eugenol
0	0	Non-use	0.16	0.07	66.92	-	-
		Use	0.13	0.04	78.46	-	1.21
	7.5	Non-use	0.13	0.06	80.10	0.02	0.03
		Use	0.14	0.07	79.76	-	-
	15	Non-use	0.12	0.14	76.66	-	-
		Use	0.11	0.19	78.73	0.08	0.01
4	0	Non-use	0.13	0.12	80.69	-	0.02
		Use	0.13	0.13	80.72	-	0.02
	7.5	Non-use	0.13	0.04	79.58	-	0.04
		Use	0.14	0.06	77.7	0.01	0.27
	15	Non-use	0.16	0.21	78.79	-	-
		Use	0.15	0.16	80.07	-	-
8	0	Non-use	0.20	0.16	79.58	-	-
		Use	0.13	0.1	79.68	-	-
	7.5	Non-use	0.16	0.22	78.09	-	-
		Use	0.13	0.18	78.1	-	-
	15	Non-use	0.16	0.09	78.26	0.01	1.59
		Use	0.14	-	76.79	-	-

ادامه جدول ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل ورمی‌کمپوست، کود حیوانی و قارچ مایکوریزا بر ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس میوه رازیانه

***Continued* Table 5- Effect of vermicompost, animal manure and mycorrhiza on concentrations of chemical compounds (%) identified in essential oil of fennel**

ورمی کمپوست Vermicompost (% in pot volume)	کود حیوانی Animal manure (% in pot volume)	مایکوریزا Mycorrhiza	میانگین Means				
			a-Copaene	(E)-Caryophyllene	(E)-b-Farnesene	Germacrene D	d-Cadinene
0	0	Non-use	0.02	-	-	0.14	0.02
		Use	0.03	0.21	0.04	0.17	0.02
	7.5	Non-use	0.03	0.05	0.01	0.17	0.02
		Use	-	-	-	0.12	-
	15	Non-use	-	-	-	0.09	-
		Use	0.03	0.08	0.02	0.16	0.02
4	0	Non-use	-	0.03	-	0.14	-
		Use	0.02	0.01	0.01	0.14	0.02
	7.5	Non-use	0.02	0.05	0.02	0.16	0.02
		Use	0.03	0.12	0.02	0.16	0.02
	15	Non-use	0.02	0.14	-	0.12	-
		Use	0.02	0.01	0.01	0.15	0.02
8	0	Non-use	-	0.04	-	0.16	-
		Use	0.02	-	-	0.13	-
	7.5	Non-use	-	0.07	0.03	0.14	0.03
		Use	0.02	0.08	-	0.14	0.03
	15	Non-use	0.03	0.2	0.04	0.16	0.02
		Use	-	-	-	0.1	-

بحث

مدیریت کود از عوامل اصلی در تولید گیاهان دارویی بوده و مصرف صحیح عناصر غذایی، سبب افزایش عملکرد کمی و کیفی گیاهان می‌شود (Chatterjee, 2001). کودهای آلی علاوه بر اثرات مثبت بیولوژیک و اصلاح خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک به علت آزادسازی تدریجی مواد غذایی، آلودگی کمتری را در محیط زیست ایجاد می‌کنند (Lee, 2010). استفاده از کود آلی در سیستم ارگانیک و مدیریت پایدار خاک از اهمیت بالایی برخوردار است. بسیاری از محققین اعتقاد دارند کودهای آلی با افزایش مواد آلی و هوموس خاک موجب افزایش درصد خلل و فرج و اسفنجی شدن خاک و در نهایت کاهش وزن مخصوص ظاهری خاک می‌شوند. این عوامل نیز به نوبه خود موجب رشد و گسترش بیشتر ریشه گیاهان در خاک و در نهایت بهبود جذب آب و عناصر غذایی و افزایش عملکرد گیاهان می‌شود (Singh *et al*., 2003).

نتایج این پژوهش نشان داد کاربرد ورمی کمپوست و کود حیوانی باعث بهبود خصوصیات رشدی و عملکردی گیاه رازیانه می‌شوند. مطالعات گسترده‌ای در رابطه با نقش مثبت کودهای آلی در افزایش خصوصیات عملکردی گیاهان انجام شده است. در پژوهشی مصرف کودهای آلی و دامی عملکرد دانه، عملکرد زیستی، تعداد چتر در بوته، تعداد دانه در چتر و ارتفاع بوته زیره سبز را افزایش داد (Saeed Nejhad and Rezvani Moghadam, 2010). گزارش شده کودهای آلی باعث افزایش معنی‌داری در ارتفاع گیاه رازیانه می‌شوند که با نتایج این پژوهش در یک راستا است (Moradi *et al*., 2011). در خصوص اثر کودهای زیستی بر افزایش ارتفاع بوته باید اظهار داشت که این امر احتمالاً ناشی از افزایش جذب عناصر غذایی به ویژه فسفر و نیتروژن و تأثیر آن بر ارتفاع می‌باشد؛ که با نتایج تحقیقات عزاز و همکاران (Azzaz *et al*., 2009) بر روی رازیانه مطابقت دارد.

کاربرد ورمی‌کمپوست و افزایش ارتفاع بوته در بابونه (Haj Seyed Hadi *et al*., 2011) و زیره سبز (Saeed Nejhad and Rezvani Moghadam, 2010) به نقش این ماده در بهبود جذب عناصر غذایی و آب و به دنبال آن اثر مثبت بر فتوسنتز گیاه (Hameeda *et al*., 2006) نسبت داده می‌شود. بر اساس یافته‌های یک پژوهش بر روی رازیانه، گزارش شد که مصرف توأم کمپوست و ورمی‌کمپوست سبب افزایش بارز ارتفاع بوته، تعداد شاخه اصلی در بوته، عملکرد دانه و عملکرد اسانس در مقایسه با سایر تیمارهای کود آلی و شاهد گردید (Moradi *et al*., 2011). نتایج تحقیق کاستیک و همکاران (Ćustić *et al*., 2003) نشان داد که مصرف کود دامی، نقش مؤثری در بهبود عملکرد کاسنی ریشه قرمز دارد. افزایش وزن تر و خشک می‌تواند به علت در دسترس بودن تمامی عناصر مغذی کم مصرف و پرمصرف فراهم شده توسط این کودها و همچنین بهبود ظرفیت نگهداری آب خاک باشد.

علیرغم وجود تفاوت فاحش برخی عناصر پرمصرف مانند فسفر در منابع کودی مورد استفاده در این آزمایش، تفاوت بسیار زیادی بین شاخص‌های رشدی مانند وزن تر گیاه مشاهده نشد. مصرف بیش از حد فسفر نه تنها تأثیر چشمگیری در افزایش عملکرد گیاه ندارد، بلکه به علت ایجاد اختلال در تغذیه گیاه و مختل کردن برخی فرآیندهای متابولیسمی، ممکن است موجبات کاهش عملکرد را نیز فراهم نماید. از جمله آثار زیان‌بار مصرف فراوان فسفر، می‌توان به تثبیت و جذب فسفر توسط ذرات کلوئیدی خاک و افزایش ذرات فسفاتی در خاک، که باعث جلوگیری از جذب دیگر عناصر غذایی توسط ریشه گیاه می‌شود، اشاره کرد. همچنین مسمومیت فسفری ناشی از جذب بیش از حد این عنصر، ازدیاد غلظت آن در بافت‌های گیاه و به هم خوردن تعادل عناصر غذایی، منجر به غیر متحرک شدن آهن در گیاه، ممانعت از جذب آهن توسط ریشه، کاهش جذب مس، تشدید کمبود عنصر روی و مختل شدن متابولیسم روی در گیاه، کاهش میکوریزایی شدن ریشه و همچنین تخریب ساختمان خاک می‌گردد (Hajeb *et al.*, 2017).

در پژوهشی بر روی نخود، مشخص گردید که مصرف سه تن در هکتار ورمی کمپوست، باعث افزایش بارز عملکرد بیولوژیک در مقایسه با شاهد گردید (Kumawat *et al.*, 2006). یافته‌های این تحقیق با نتایج بسیاری از محققین در خصوص اثر ورمی‌کمپوست بر رشد ریشه در گیاهان مطابقت دارد. یافته‌های ادواردز و باروز (Edwards and Burrows, 1988) بیانگر بهبود عملکرد ریشه و رشد گیاه در اثر مصرف ورمی‌کمپوست بود. آن‌ها این افزایش عملکرد را به افزایش فعالیت مواد شبه‌هورمونی از جمله اکسین، جیبرلین، سیتوکینین و همچنین ویتامین B_{12} نسبت دادند. دانشیان و همکاران (Daneshian *et al.*, 2011) اثر سطوح مختلف کود گاوی را بر عملکرد کمی و کیفی ریحان مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که بیشترین عملکرد بذر، عملکرد زیستی و درصد اسانس پس از کاربرد بالاترین میزان کودهای دامی به دست آمد. در پژوهشی بر روی بادرنجبویه نیز کاربرد کودهای آلی، وزن هزار دانه را افزایش داد (Javanmardi and Hasanshahian, 2014).

نتایج این پژوهش نشان داد کاربرد کودهای آلی باعث افزایش محتوای فنولی و فلاونوئیدی گیاه رازیانه می‌شود. برخی شواهد نشان می‌دهد هیومیک اسید و مواد هیومیکی موجود در کودهای حیوانی و ورمی‌کمپوست‌ها حاوی گروه‌های فنولی و کربوکسیلی بوده که این گروه‌ها عمدتاً جایگاه غالب نگهداری و ذخیره برخی عناصر نظیر مس و روی هستند. این مواد به نوبه خود باعث افزایش بیوسنتز ترکیبات فنولی از جمله فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها شده و در نتیجه بهبود عملکرد کمی و کیفی محصولات قابل انتظار است (Theunissen *et al.*, 2010). نتایج صفایی و همکاران (Safaei *et al.*, 2014) حاکی از افزایش عملکرد خشک گیاه آویشن دنایی با افزایش کودهای دامی و کاهش کودهای شیمیایی در سیستم تلفیقی است؛ افزایش عملکرد فنولی به تبعیت از افزایش عملکرد خشک منطقی به نظر می‌رسد. پژوهشگران دیگری نیز نقش مثبت ورمی‌کمپوست‌ها را در افزایش سنتز فلاونوئیدها در گیاهان گزارش کرده‌اند (Kheiry *et al.*, 2016). آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز نقش کلیدی در مسیر متابولیسمی فنیل‌پروپانوئیدها دارد که فعالیت این آنزیم می‌تواند تحت تأثیر تغذیه گیاه، تنش‌های زنده و غیرزنده و مرحله رشدی گیاه تغییر کند (Bagal *et al.*, 2012). افزایش میزان فنول‌ها در کلم بروکلی پس از کاربرد کودهای آلی، نقش بارز این کودها را در بیوسنتز ترکیباتی که القاءکننده مسیر شیکمیک‌اسید و درنهایت تولید بیشتر فلاونوئیدها و سایر ترکیبات فنولی است را تقویت می‌کند (Naguib *et al.*, 2012).

مطالعات متعددی به تأثیر مثبت ورمی‌کمپوست در افزایش عملکرد کمی و کیفی گیاهان دارویی و زراعی پرداخته‌اند که از آن جمله می‌توان به تأثیر مطلوب ورمی‌کمپوست بر عملکرد بیولوژیک، کمیت و کیفیت اسانس ریحان (Anwar *et al.*, 2005) و رازیانه (Darzi *et al.*, 2007) اشاره کرد. آزمایشات متعدد نشان داده است که کاربرد کودهای بیولوژیک باعث تغییر در میزان اسانس و ترکیبات اسانس گیاهان می‌شود. در پژوهشی مشابه بر روی رازیانه، بالاترین عملکرد اسانس و میزان آنتول در اسانس پس از کاربرد کمپوست و ورمی‌کمپوست به دست آمد (Moradi *et al.*, 2011). کودهای حیوانی و ورمی‌کمپوست غنی از عناصر غذایی پر مصرف و کم مصرف بوده که با آزاد سازی تدریجی این عناصر در طول دوره رشد گیاه، باعث افزایش میزان آنتول موجود در اسانس گیاه رازیانه شده و در نتیجه کیفیت اسانس این گیاه را بهبود می‌بخشند (Moradi *et al.*, 2011). از آنجایی که اسانس‌ها ترکیباتی ترپنوئیدی بوده و واحدهای سازنده آن‌ها (ایزوترپنوئیدها) مانند ایزوپنتنیل پیروفسفات و دی متیل آلیل پیروفسفات، نیاز مبرم به ATP و NADPH دارند و با توجه به این که حضور عناصری مانند نیتروژن و فسفر برای تشکیل ترکیبات اخیر ضروری است، پس می‌توان نتیجه گرفت که تیمارهای کودی مورد آزمایش با فراهمی بیشتر میزان نیتروژن و فسفر نسبت به شاهد، باعث بهبود میزان آنتول اسانس شدند (Moradi *et al.*, 2011).

قارچ‌های مایکوریزا از عوامل ضروری در سیستم پایدار خاک–گیاه محسوب شده و به دلیل افزایش مؤثر سطح جذب ریشه از طریق ایجاد هیف، سبب بهبود جذب آب و عناصر غذایی در گیاهان می‌شوند (Chen *et al.*, 2020). در این پژوهش، قارچ مایکوریزا نقش مثبتی در افزایش و بهبود شاخص‌های رشدی و عملکردی رازیانه داشت. در یک پژوهشی مشابه، اثر مایکوریزا بر عملکرد دانه، عملکرد بیولوژیک، شاخص برداشت و عملکرد اسانس رازیانه و زنیان معنی‌دار بود، به طوری که تلقیح با مایکوریزا به ترتیب باعث افزایش ۲۵ و ۳۵ درصدی عملکرد این دو گیاه شد (Shabahang

et al., 2013).

گیاهان دارای همزیستی مایکوریزایی نسبت به گیاهان غیرمایکوریزایی، آب را از خاک سریع‌تر و کامل‌تر تخلیه می‌نمایند، زیرا در گیاهان مایکوریزایی معمولاً اندام هوایی و سطح برگ‌ها در گیاه توسعه بیشتری پیدا می‌کند که این خود باعث افزایش نیاز تعرقی گیاهان مایکوریزایی می‌شود. از طرف دیگر سیستم ریشه‌ای در گیاهان مایکوریزایی منشعب‌تر شده، قطر ریشه‌های فرعی در آن‌ها کاهش و طول ریشه افزایش یافته است. به همین دلیل ریشه‌های مایکوریزایی سطح تماس بیشتری با خاک پیدا کرده و قادر به جذب سریع‌تر آب از خاک می‌شوند (Amiri *et al*., 2015). به نظر می‌رسد همزیستی مایکوریزایی با ریشه رازیانه سبب افزایش فتوسنتز شده و این امر موجب رشد بیشتر و بهبود ارتفاع و عملکرد بیولوژیک گیاه شده است. نتایج تحقیق درزی و همکاران (Darzi *et al*., 2007) بر روی رازیانه نشان داد که بیشترین تعداد چتر در بوته، عملکرد بیولوژیک و درصد همزیستی ریشه در بوته‌های تلقیح شده با مایکوریزا حاصل شد. کاپور و همکاران (Kapoor *et al*., 2004) نیز اظهار داشتند که همزیستی مایکوریزایی از طریق بهبود تغذیه گیاه و افزایش زیست توده در گیاه رازیانه موجب تسریع در گل‌دهی و افزایش تعداد چتر در بوته می‌شود. پژوهشگران (Gharib *et al*., 2008) در گیاه مرزنجوش گزارش کردند که کودهای زیستی اثر مثبتی بر عملکرد بذر و میزان اسانس این گیاهان داشت. افزون بر این، نقش مثبت مایکوریزا بر اجزای عملکرد، عملکرد بذر، درصد و عملکرد اسانس گشنیز گزارش شده است (Kapoor *et al*., 2002).

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد کاربرد ورمی‌کمپوست، کود حیوانی و مایکوریزا باعث بهبود خصوصیات رشدی، بیوشیمیایی و عملکرد اسانس رازیانه در شرایط گلخانه می‌گردد. نتایج پژوهش حاضر با فیزیولوژی کارکرد کودهای حیوانی، ورمی‌کمپوست و کود نیتروژن و در اختیار قرار دادن عناصر غذایی برای گیاه رازیانه هماهنگ است؛ زیرا این کودها با در اختیار قرار دادن مقادیر زیادی از عناصر غذایی مورد نیاز و تأثیری که بر جنبه‌های مختلف رشد و توسعه ریشه می‌گذارند عملکرد گیاه را افزایش می‌دهند. در این میان شاید نقش نیتروژن به دلیل مشارکت در پروتئین‌سازی و آهن که در تثبیت نیتروژن، فتوسنتز و انتقال الکترون نقش دارد، بیشتر از بقیه نمایان باشد. همچنین نتایج نشان داد، تلقیح گیاهان با مایکوریزا، بیشترین تأثیر را بر بهبود شاخص‌های رشدی، عملکرد بذر، اسانس و محتوای فنولی و فلاونوئیدی گیاه داشت.

منابع

1. Amiri R., Nikbakht A., and Etemadi N. 2015. Alleviation of drought stress on rose geranium [*Pelargonium graveolens* (L.) Herit.] in terms of antioxidant activity and secondary metabolites by mycorrhizal inoculation. Scientia Horticulturae 197: 373-380. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.062.
2. Anwar M., Patra D.D., Chand S., Alpesh K., Naqvi A.A., and Khanuja S.P.S. 2005. Effect of organic manures and inorganic fertilizer on growth, herb and oil yield, nutrient accumulation, and oil quality of French basil. Communications in Soil Science and Plant Analysis 36(13-14): 1737-1746. https://doi.org/10.1081/CSS-200062434.
3. Arancon N.Q., Edwards C.A., Atiyeh R., and Metzger J.D. 2004. Effects of vermicomposts produced from food waste on the growth and yields of greenhouse peppers. Bioresource Technology 93(2): 139-144. 10.1016/j.biortech.2003.10.015.
4. Arancon N.Q., Galvis P.A., and Edwards C.A. 2005. Suppression of insect pest populations and damage to plants by vermicomposts. Bioresource Technology 96(10): 1137-1142. 10.1016/j.biortech.2004.10.004.
5. Atiyeh R.M., Subler S., Edwards C.A., Bachman G., Metzger J.D., and Shuster W. 2000. Effects of vermicomposts and composts on plant growth in horticultural container media and soil. Pedobiologia 44(5): 579-590. https://doi.org/10.1078/S0031-4056(04)70073-6
6. Azzaz N.A., Hassan E.A., and Hamad E.H. 2009. The chemical constituent and vegetative and yielding characteristics of fennel plants treated with organic and bio-fertilizer instead of mineral fertilizer. Australian Journal of Basic and Applied Sciences 3(2): 579-587.
7. Bagal U.R., Leebens-Mack J.H., Lorenz W.W., and Dean J.F. 2012. The phenylalanine ammonia lyase (PAL) gene family shows a gymnosperm-specific lineage. In BMC Genomics 13(3): 1-9. https://doi.org/10.1186/1471-2164-13-S3-S1.
8. Behrooz A., Vahdati K., Rejali F., Lotfi M., Sarikhani S., and Leslie C. 2019. Arbuscular mycorrhiza and plant growth-promoting bacteria alleviate drought stress in walnut. HortScience 54(6): 1087-1092. https://doi.org/10.21273/HORTSCI13961-19.
9. Bouwman H., and Reinecke A.J. 1991. A defined medium for the study of growth and reproduction of the earthworm *Eisenia fetida* (Oligochaeta). Biology and Fertility of Soils 10(4): 285-289.

10. Chatterjee S.K. 2001. Cultivation of medicinal and aromatic plants in India-A commercial approach. In *International Conference on Medicinal and Aromatic Plants.* Possibilities and Limitations of Medicinal and Aromatic Plant 576: 191-202. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2002.576.28.
11. Chen W., Meng P., Feng H., and Wang C. 2020. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on growth and physiological performance of *Catalpa bungei* CA Mey. under drought stress. Forests 11(10): 1117. 10.3390/f11101117
12. Ćustić M., Poljak M., Čoga L., Ćosić T., Toth N., and Pecina M. 2003. The influence of organic and mineral fertilization on nutrient status, nitrate accumulation, and yield of head chicory. Plant, Soil and Environment 49(5): 218-222. https://doi.org/10.17221/4116-PSE.
13. Daneshian J., Yousefi M., Zandi P., Jonoubi P., and Khatibani L.B. 2011. Effect of planting density and cattle manure on some qualitative and quantitative traits in two basil varieties under Guilan condition, Iran. American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences 11(1): 95-103.
14. Darzi M.T., Ghalavand A., and Rejali F. 2007. Effect of mycorrhiza, vermicompost and phosphate biofertilizer application on flowering, biological yield and root colonization in fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). Iranian Journal of Crop Sciences 10(1): 88-109. (In Persian with English abstract)
15. Edwards C.A., and Burrows I. 1988. Potential of earthworm composts as plant growth media. Earthworms in waste and environmental management/edited by Clive A. Edwards and Edward F. Neuhauser.
16. Garg P., Gupta A., and Satya S. 2006. Vermicomposting of different types of waste using *Eisenia foetida*: A comparative study. Bioresource Technology 97(3): 391-395. 10.1016/j.biortech.2005.03.009.
17. Gharib F.A., Moussa L.A., and Massoud O.N. 2008. Effect of compost and bio-fertilizers on growth, yield and essential oil of sweet marjoram (*Majorana hortensis*) plant. International Journal of Agriculture and Biology 10(4): 381-387.
18. Gholami H., Raouf Fard F., Saharkhiz M.J., and Ghani A. 2018. Yield and physicochemical properties of inulin obtained from Iranian chicory roots under vermicompost and humic acid treatments. Industrial Crops and Products 123: 610-616. 10.1016/j.indcrop.2018.07.031.
19. Giovannetti M., and Mosse B. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. New Phytologist 489-500. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1980.tb04556.x.
20. Haj Seyed Hadi M.R., Darzi M.T., Ghandehari Z., and Riazi G. 2011. Effects of vermicompost and amino acids on the flower yield and essential oil production from *Matricaria chamomile* L. Journal of Medicinal Plants Research 5(23): 5611-5617.10.18869/acadpub.ejgcst.7.4.1.
21. Hajeb S., Boroumand N., and Sanjari S. 2017. Effect of application of phosphorus fertilizer in calcareous soils containing different amounts of native phosphorus on yield and micronutrients uptake of cucumber. Journal of Soil and Plant Interactions 7(4): 1-11. (In Persian)
22. Hameeda B., Rupela O.P., Reddy G., and Satyavani K. 2006. Application of plant growth-promoting bacteria associated with composts and macrofauna for growth promotion of pearl millet (*Pennisetum glaucum* L.). Biology and Fertility of Soils 43 (2): 221-227. 10.1007/s00374-006-0098-1.
23. Javanmardi J., and Hasanshahian O. 2014. Humic acid and manure tea affected reproductive stage and fruit quality factors of pepino in organic production system. Building Organic Bridges 3: 683-686. 10.3220/REP_20_1_2014.
24. Jeffries P., Gianinazzi S., Perotto S., Turnau K., and Barea J.M. 2003. The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility. Biology and Fertility of Soils 37(1): 1-16. 10.1007/s00374-002-0546-5**.**
25. Kapoor R., Giri B., and Mukerji K.G. 2002. Mycorrhization of coriander (*Coriandrum sativum* L) to enhance the concentration and quality of essential oil. Journal of the Science of Food and Agriculture 82(4): 339-342. https://doi.org/10.1002/jsfa.1039.
26. Kapoor R., Giri B., and Mukerji K.G. 2004. Improved growth and essential oil yield and quality in *Foeniculum vulgare* mill on mycorrhizal inoculation supplemented with P-fertilizer. Bioresource Technology 93(3): 307-311. 10.1016/j.biortech.2003.10.028.
27. Kheiry A., Arghavani M., and Khastoo M. 2016. Effects of organic fertilizers application on morphophysiological characteristics of calendula (*Calendula officinalis* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 31(6): 1047-1057. (In Persian with English abstract)
28. Kumawat P.D., Jat N.L., and Yadav S.S. 2006. Effect of organic manure and nitrogen fertilization on growth, yield and economics of barley (*Hordeum vulgare*). Indian Journal of Agricultural Science 76(4): 226-229.
29. Lee J. 2010. Effect of application methods of organic fertilizer on growth, soil chemical properties and microbial densities in organic bulb onion production. Scientia Horticulturae 124(3): 299-305. 10.1016/j.scienta.2010.01.004.
30. Mahfouz S.A., and Sharaf-Eldin M.A. 2007. Effect of mineral vs. biofertilizer on growth, yield, and essential oil content of fennel [*Foeniculum vulgare* Mill.]. International Agrophysics 21(4): 361-366.
31. Menichini F., Tundis R., Bonesi M., Loizzo M.R., Conforti F., Statti G., and Menichini F. 2009. The influence of fruit ripening on the phytochemical content and biological activity of *Capsicum chinense* Jacq. cv Habanero. Food Chemistry 114(2): 553-560. 10.1016/j.foodchem.2008.09.086.

32. Moradi R., Nasiri mahallati M., Rezvani moghadam P., Lakzian A., and Nejadali A. 2011. The effect of biological and organic fertilizers on the quantity and quality of fennel essential oil (*Foeniculum vulgare* Mill). Journal of Horticultural Science 25(1): 25-33. (In Persian)
33. Naguib A.E.M.M., El-Baz F.K., Salama Z.A., Hanaa H.A.E.B., Ali H.F., and Gaafar A.A. 2012. Enhancement of phenolics, flavonoids and glucosinolates of Broccoli (*Brassica olaracea*, var. Italica) as antioxidants in response to organic and bio-organic fertilizers. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences 11(2): 135-142. 10.1016/j.jssas.2012.03.001.
34. Oke F., Aslim B., Ozturk S., and Altundag S. 2009. Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Satureja cuneifolia* Ten. Food Chemistry 112(4): 874-879. 10.1016/j.foodchem.2008.06.061.
35. Omidbeygi R. 2013. *Production and processing of medicinal plants*. Publication of Astan Quds Razavi 6 (2): 423p. (In Persian)
36. Prabha M.L., Jayraaj I.A., Jayaraj R., and Rao D.S. 2007. Effect of vermicompost and compost on growth parameters of selected vegetable and medicinal plants. Asian Journal of Microbiology, Biotechnology and Environmental Sciences 9(2): 321-326.
37. Roy S., Arunachalam K., Dutta B.K., and Arunachalam A. 2010. Effect of organic amendments of soil on growth and productivity of three common crops viz. *Zea mays*, *Phaseolus vulgaris* and *Abelmoschus esculentus*. Applied Soil Ecology 45(2): 78-84.
38. Saeed Nejhad A.H., and Rezvani Moghadam P. 2010. Evaluation of consumption of compost, vermicompost and manure fertilizers on yield, yield components of Cumin and essence percentage. Horticulture Sciences Journal 24(2): 142-148. (In Persian with English abstract)
39. Safaei L., Sharifiashoorabadi E., Afiuni D., Emami S.D., and Shoaii A.A. 2014. The effect of different nutrition systems on aerial parts and essential oil yield of *Thymus daenensis* Celak. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 30(5): 702-713. (In Persian with English abstract)
40. Saharkhiz M.J., Smaeili S., and Merikhi M. 2010. Essential oil analysis and phytotoxic activity of two ecotypes of *Zataria multiflora* Boiss. growing in Iran. Natural Product Research 24(17): 1598-1609. https://doi.org/10.1080/14786411003754280.
41. Shabahang J., Khorramdel S., and Gheshm R. 2013. Evaluation of symbiosis with mycorhizzal on yield, yield components and essential oil of fennel (*Foeniculum vulgare* mill.) and ajowan (*Carum copticum* L.) under different nitrogen levels. Agroecology 5: 289-298. (In Persian with English abstract)
42. Shahat A.A., Ibrahim A.Y., Hendawy S.F., Omer E.A., Hammouda F.M., Abdel-Rahman F.H., and Saleh M.A. 2011. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of essential oils from organically cultivated fennel cultivars. Molecules 16(2): 1366-1377. 10.3390/molecules16021366.
43. Singh D., Chand S., and Anvar M. 2003. Effect of organic and inorganic amendment on growth and nutrient accumulation by isabgol (*Plantago ovata*) in sodic soil under greenhouse conditions. Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences 5(10): 4.
44. Theunissen J., Ndakidemi P.A., and Laubscher C.P. 2010. Potential of vermicompost produced from plant waste on the growth and nutrient status in vegetable production. International Journal of the Physical Sciences 5(13): 1964-1973. https://doi.org/10.5897/IJPS.9000448.
45. Weber J., Karczewska A., Drozd J., Licznar M., Licznar S., Jamroz E., and Kocowicz A. 2007. Agricultural and ecological aspects of a sandy soil as affected by the application of municipal solid waste composts. Soil Biology and Biochemistry 39(6): 1294-1302. 10.1016/j.soilbio.2006.12.005.
46. Wojdyło A., Oszmiański J., and Czemerys R. 2007. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. Food Chemistry 105 (3): 940-949. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.04.038.

Journal of Horticultural Science
https:// jhs.um.ac.ir

Research Article
Vol. 36, No. 1, Spring 2022, p. 307-318

Effect of Gibberellic Acid and Different Spectra of LED Lights on Quality of *Cyclamen persicum* Mill. Seedlings

B. Gholamian Dehkordi[1], S. Reezi[2]*, M. Ghasemi Ghehsareh[3]

Received: 17-07-2021
Revised: 08-08-2021
Accepted: 28-08-2021
Available Online: 20-06-2022

How to cite this article:
Gholamian Dehkordi B., Reezi S., and Ghasemi Gheahsareh M. 2022. Effect of Gibberellic Acid and Different Spectra of LED Lights on Quality of *Cyclamen persicum* Mill. Seedlings. Journal of Horticultural Science 36(1): 307-318. (In Persian with English Abstract)
DOI: 10.22067/JHS.2021.71343.1071

Introduction

Cyclamen persicum is a genus of Primulaceae family and is a winter pot plant that can be marketed within seven months under proper growing conditions. In recent years, the rapid development of lighting technology has increased the use of several types of LED lamps because of their efficient roles to generate visible light via a lot of wavelengths. Application of some plant growth regulators (PGRs) like GA3 is well-known as an environment-friendly growth regulatorwhich is extensively employed to increase the productivity and and changing the phenotypic features of several ornamental plants.

Materials and Methods

In this experiment, cyclamen large red flower seeds, i.e. the Halios series, were planted in early May, and then kept in a dark and cool greenhouse for one month. After germination and the emergence of cotyledonary leaves, transplants exposed to two levels of the LED light spectrum for 4 months consisting of the ratios of 70:20:10 and 40:40:20 via white:red and blue with the same intensity 100 µmol/m^2/s subjected to a 16-hour photoperiodic conditions. At the end of the third month of growth, GA_3 was sprayed on the leaves at four concentrations of 0, 20, 40, and 60 mg/l three times around the experiment. NPK fertilizer with a ratio of 10-52-10 was then applied once a week and a ratio of 20-19-19 fertilizer until the roots were fully established. Afterwards, the leaf area was measured using Digimizer version 5.4.3 software, in which the flowering date was calculated from of transferring time the plants of each treatment under light. In the following, chlorophyll and carotenoid contents were measured using Lichtenthaler and Wellburn method. Leaf soluble sugar was measured using the Oregon method and the chlorophyll fluorescence indices were measured using FluorPen FP 100.

Results and Discussion

According to the results, the highest leaf number of cyclamen seedlings in the treatment of 40:40:20 was equal to seven, whereas the highest leaf area (9.8 cm^2) observed under the light treatment of 70:20:10. the blue LED light can affects on differentiation of leaf mesophilic cells as well as the development of intercellular spaces, and the red light affects the production of a plant hormone so-called Meta-Topolin, which stimulates cell division and leaf expansion. Here, it should be noted that adding white LED light to the composition spectrum increases both growth and photosynthesis because of its deeper penetration into the plant canopy. The maximum root length was achieved at a concentration of 60 mg/l GA_3 equal to 5.1 cm. It should be mentioned that GA_3 is effective to increase the growth of cells in different parts of the plant (such as roots) by stimulating mitotic division. The closest date to cyclamen flowering time (90 days) was obtained in 70:20:10 treatment. . The highest amount of chlorophyll b was achieved from the interaction of light treatment 40:40:20 and concentration of 0 mg/l GA_3 equal to 0.35 mg/g. Results showed that the red light is needed for the photosynthesis, whereas the

1, 2 and 3- BSc. Student and Assisatant Professors, Department of Horticulture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran, respectively.
(*- Corresponding Autthor Email: sreezi@sku.ac.ir)

blue light is needed for chlorophyll and chloroplast synthesis, stomatal opening, and photomorphogenesis. The highest amount of leaf soluble sugar of cyclamen seedlings was achieved from the interaction of 40:40:20 and the concentration of 0 mg/l GA_3 equal to 0.53 mg/ml. Carbohydrates mostly accumulate in the leaves under blue light, whereas the red light can cause them to accumulate by preventing the transferring the photosynthetic products from the leaves. Among chlorophyll fluorescence indices, the highest V_J index was obtained from 40 mg/l GA_3 concentration equal to 0.51. V_J was measured from the first light pulse, in which its increase via increasing the performance of the photosynthetic apparatus reveal the ability of seedlings to make better use of environmental conditions applied to produce more carbohydrates as well as to enhance the growth quality. The highest values of φ-$_{E0}$ and Ψ-$_0$ indices in GA_3 0 treatment were 0.44 and 0.54, respectively, indicating that increasing them improves the performance index of the photosynthetic apparatus. The external GA_3 increases only the amount of chlorophyll and soluble protein content in the leaves of some plants, and interferes with the greater light reflection, chlorophyll fluorescence and eventually the performance of photosystem II. In this regard, the highest amount of ABS/RC index was observed in the interaction of 40:40:20 and concentration of 60 mg/l GA_3 equal to 2.27, which is equal to increasing the performance index of photosynthetic device. During the plant growth, the use of monochromatic LED light compared to the full visible spectrum or red + blue lights would lead to creating some defects in the electron transport chain.

Conclusion

An increase in PI (Plant Photosynthetic Performance Index) means that the plant is operating under conditions of normal photosynthesis. In general, an increase in this index indicates the ability of seedlings or mature plants to make better use of environmental conditions to produce more carbohydrates and improve growth quality. The relationship between increasing the amount of chlorophyll b, leaf soluble sugar and ABS / RC index all in 40:40: 20 treatment while confirming this correlation, shows that since most of the light absorption by chlorophyll is in the red and blue light spectrum. 40: 40: 20 is better than 70: 20: 10 with more red and blue light. The effect of light of any quality or GA3 at any concentration on the qualitative traits of seedling or adult plant growth is directly related to plant genotype and no specific effects can be determined for them. The use of complementary LED light may in some respects lead to a further increase in the quality of Cyclamen seedlings, but it is only reasonable to use them if it compensates for other production costs, including electricity consumption. Finally, chlorophyll fluorescence indices are also independent of each other in terms of their effect on the performance of the photosynthetic apparatus.

Keywords: Chlophyll flourescence, Floweing time, Leaf area, Root length, Soluble sugar

نشریه علوم باغبانی
https:// jhs.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۶، شماره ۱، بهار ۱۴۰۱، ص ۳۱۸-۳۰۷

بررسی اثر جیبرلیک‌اسید و طیف‌های مختلف نور LED بر کیفیت نشاء *Cyclamen persicum* Mill.

بدری غلامیان دهکردی[۱]- سعید ریزی[۲]*- مسعود قاسمی قهساره[۳]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۴/۲۶
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۶/۰۶

چکیده

به‌منظور بررسی تاثیر طیف‌های نور LED و جیبرلیک‌اسید (GA_3) بر کیفیت نشاء سیکلمن (*Cyclamen persicum*) آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. گیاهان از مرحله جوانه‌زنی به‌مدت چهار ماه تحت تاثیر دو سطح از طیف‌های نوری LED شامل نسبت‌های ۷۰: ۲۰: ۱۰ و ۴۰: ۴۰: ۲۰ درصد با رنگ‌های سفید: قرمز: آبی با شدت یکسان ۱۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه، در محفظه‌ای طراحی شده (که عوامل محیطی تا حد امکان در آن تحت کنترل بود) قرار گرفتند و GA_3 در چهار غلظت صفر، ۲۰، ۴۰ و ۶۰ میلی‌گرم برلیتر و در سه نوبت روی برگ‌ها افشانش شد. بر اساس نتایج، بیشترین تعداد برگ و سطح برگ به‌ترتیب در تیمار ۴۰: ۴۰: ۲۰ و ۷۰: ۲۰: ۱۰ مشاهده شد. طول ریشه در غلظت ۶۰ میلی‌گرم بر لیتر GA_3 افزایش یافت و نزدیکترین تاریخ گلدهی گیاه از برهمکنش تیمار ۷۰: ۲۰: ۱۰ و غلظت صفر میلی‌گرم بر لیتر GA_3 بدست آمد. بیشترین مقدار کلروفیل b و قند محلول برگ از برهمکنش تیمار ۴۰: ۴۰: ۲۰ و غلظت صفر میلی‌گرم برلیتر GA_3 مشاهده شد. شاخص‌های Ψ_0 (حداکثر عملکرد کوانتومی فتوشیمیایی اولیه) و φE_0 (عملکرد کوانتومی انتقال الکترون) در غلظت صفر میلی‌گرم بر لیتر GA_3 و V_J (فلورسنس متغیر نسبی) در غلظت ۴۰ میلی‌گرم برلیتر GA_3 افزایش یافت. بالاترین میزان ABS/RC (تراکم مرکز واکنش به‌ازاء مقدار انرژی نورانی جذب شده) از برهمکنش تیمار ۴۰: ۴۰: ۲۰ و غلظت ۶۰ میلی‌گرم بر لیتر GA_3 بدست آمد. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد کاربرد تجاری لامپ‌های LED برای پرورش نشاء سیکلمن برای دستیابی به‌نتایج مشابه با این پژوهش باید با در نظر گرفتن سایر هزینه‌ها با احتیاط انجام شود.

واژه‌های کلیدی: تاریخ گلدهی، سطح برگ، طول ریشه، فلورسانس کلروفیل، قند محلول

مقدمه

سیکلمن با نام علمی *Cyclamen persicum* از تیره Primulaceae و از گیاهان گلدانی زمستانه‌ی محبوب است (Dole and Wilkins, 2004) که وقتی در شرایط مساعد به‌خوبی رشد کند در عرض ۷ ماه قابل بازاررسانی است (Farjadi Shakib *et al.*, 2012).

کمیت، کیفیت و مدت زمان تابش نور، موجب تغییراتی در عملکرد فتوسنتز و انجام واکنش‌های متابولیکی و مورفولوژیکی گیاه می‌شود (Morrow, 2008). استفاده از نورهای تکمیلی در پرورش گیاهان باعث بهبود کیفیت رشد، کاهش استفاده از مواد شیمیایی و در نتیجه کاهش اثرات سوء آنها بر محیط زیست می‌شود (Abidi *et al.*, 2012). به‌طور کلی پیشرفت سریع تکنولوژی استفاده از نور در سال‌های اخیر، استفاده از انواع لامپ‌های LED را به‌دلیل نقش کارآمد آنها در تولید نورهای مرئی با گستره وسیعی از طول‌موج‌ها افزایش داده است (Seif *et al.*, 2018). تاکنون گزارش‌هایی مبنی بر تاثیر مثبت کاربرد نور LED بر بهبود وضعیت رشد بعضی از گیاهان زینتی ارائه شده است، اما چگونگی تاثیر طیف‌های اختصاصی بر کیفیت رشد نشاء گیاهان زینتی کمتر مورد توجه بوده است (Fukuda *et al.*, 2016). ترکیب طیف‌های آبی و قرمز LED منجر به‌افزایش عملکرد رنگدانه‌های فتوسنتزی و بهبود کارآیی آنان و در نتیجه افزایش رشد گیاهان می‌شود (Toyoki *et al.*, 2016). پژوهش‌های مختلف نشان

۱، ۲ و ۳- به‌ترتیب دانش آموخته کارشناسی ارشد و استادیاران گروه علوم باغبانی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: sreezi@sku.ac.ir)
DOI: 10.22067/JHS.2021.71343.1071

می‌دهد که انواع LED در مقایسه با نور خورشید و دیگر لامپ‌ها می‌توانند حتی باعث کاهش زمان تا گلدهی شوند (Mitchell *et al.*, 2015). انواع GA رشد گیاهان سالم و صدمه ندیده را افزایش داده، گلدهی را در دامنه وسیعی از گیاهان عالی تحریک کرده، سطح برگ و طول میانگره را افزایش می‌دهند (Arteca, 2014). GA_3 از تنظیم‌کننده‌های رشد سازگار با محیط زیست است که به‌طور گسترده‌ای برای افزایش بهره‌وری و بهبود ویژگی‌های فنوتیپی محصولات زینتی متعدد استفاده می‌شود (Mihaiela *et al.*, 2020). GA_3 قادر است دوره گلدهی را در برخی گیاهان زینتی و بسیاری دیگر از گیاهان گل‌دهنده کاهش دهد. در مورد سیکلمن، GA_3 به‌طور معمول پس از نمو جوانه‌ها برای کوتاه‌کردن زمان رسیدن به دوره‌ی گلدهی بکار می‌رود (Dole and Wilkins, 2004). GA_3 آلفاآمیلاز و سایر آنزیم‌های هیدرولتیک را تحریک نموده، هیدرولیز اندوخته‌های غذایی را افزایش داده و حتی در شدت نور کم، تحریک فتوسنتز را از طریق افزایش سطح برگ موثر افزایش می‌دهد (Artka, 2014). همچنین می‌تواند میزان کلروفیل a، b، سرعت واکنش هیل و میزان ترکیبات فنلی را افزایش دهد (Omrani *et al.*, 2015). هدف از این پژوهش بررسی تاثیر کیفیت نور LED و غلظت‌های مختلف GA_3 بر صفات فیزیولوژیکی، مورفولوژیکی، شاخص‌های فتوسنتزی نشاء سیکلمن و تاریخ گلدهی گیاه بوده است.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش، بذرهای سیکلمن گل درشت قرمز، سری Halios در اوایل اردیبهشت کشت و برای یک ماه در شرایط خنک و تاریک در گلخانه قرار گرفتند. پس از جوانه‌زنی و ظهور برگ لپه‌ای، گیاهان به‌محفظه طراحی شده منتقل شدند. بستر کشت شامل مخلوطی از ۷۵ درصد پیت‌ماس و ۲۵ درصد پرلیت شکری بود. در محفظه گیاهان به‌مدت ۴ ماه تحت تاثیر دو سطح از طیف‌های نوری LED شامل نسبت‌های ۷۰: ۲۰: ۱۰ و ۴۰:۴۰: ۲۰ درصد با رنگ‌های سفید: قرمز: آبی با شدت یکسان ۱۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه (اندازه‌گیری شده توسط پارمتر Apogee Quantum meter MQ500) با فتوپریود ۱۶ ساعته قرار گرفتند. در اواخر ماه سوم رشد (به‌تقریب ۴ تا ۵ برگی)، GA_3 در چهار غلظت صفر، ۲۰، ۴۰ و ۶۰ میلی‌گرم بر لیتر و در ۳ نوبت با فاصله ۱۰ روز از هم روی برگ‌ها افشانش شد. در این مدت میانگین دمای حداقل و حداکثر به‌ترتیب ۲۳ و ۲۶ درجه سلسیوس و میانگین رطوبت نسبی حدود ۵۵ درصد بود. کود NPK با نسبت ۱۰-۵۲-۱۰ به‌صورت محلول ۰/۵ در ۱۰۰۰ (گرم کود در میلی‌لیتر آب) هر ۱۰ روز یکبار و بعد از انتقال نشاها به‌سینی‌های ۵۰ تایی (۷۰ روز بعد از کشت) ۲ بار در هفته تا زمان استقرار کامل ریشه‌ها استفاده شد. پس از آنکه نشاها به‌مرحله ۵ برگ کامل باز شده رسیدند کود NPK با نسبت ۱۹-۱۹-۲۰ یک‌بار در هفته، با غلظت ۰/۷۵ در ۱۰۰۰ به‌کار رفت. در مرحله ۶-۸ برگی (مرحله انتقال نشا به گلدان) صفات مورفولوژیکی (تعداد برگ، سطح برگ، (وزن تر و خشک شاخساره، غده و ریشه)، طول و حجم ریشه و تاریخ گلدهی گیاه)، صفات فیزیولوژیکی (مقادیر کلروفیل (a، b، کل)، کاروتنوئید و قند محلول برگ) و برخی شاخص‌های مربوط به‌فتوسنتز نشاء بررسی شد ولی در قسمت نتایج و بحث فقط صفاتی که اثر تیمارها بر آنها معنی‌دار شد بیان شده است.

اندازه‌گیری صفات مورفولوژیکی

برای اندازه‌گیری سطح برگ از نرم‌افزار Digimizer version 5.4.3 استفاده شد. تاریخ گلدهی از زمان انتقال گیاهان به‌زیر نور و به‌صورت روزشمار برای گیاهان هر تیمار محاسبه گردید.

تعیین مقادیرکلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید

برای اندازه‌گیری مقادیر کلروفیل و کاروتنوئید از روش لیچنتالر و ولبورن (Lichenthaler and Wellburn, 1983) استفاده شد. ۰/۵ گرم بافت تازه برگ را همراه با استون ۸۰ درصد در هاون چینی کوبیده و آمیخته بدست آمده در فالکون مدرج با استون ۸۰ درصد به‌حجم ۱۰ سی‌سی رسانده شد. نمونه‌ها به‌مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شده و سپس جذب نوری محلول رونشین با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (GENWAY 63200) که در ابتدا با استون ۸۰ درصد کالیبره شده بود، در طول‌موج‌های ۶۶۳ نانومتر ۶۴۶ نانومتر و ۴۷۰ نانومتر قرائت شد. در نهایت از فرمول‌های (۱) برای محاسبه مقادیر کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید استفاده گردید.

$$\text{Chl a } (mg.g^{-1}) = ((12.21\times663nm)-(2.81\times646nm))\,V/1000W$$

$$\text{Chl b } (mg.g^{-1}) = ((20.13\times646nm)-(5.03\times663nm))\,V/1000W$$

$$\text{Car } (mg.g^{-1}) = ((1000\times470nm)-(3.27\times\text{Chl a})-(104\times\text{Chl b}))/227$$

$$\text{Chl T } (mg.\,g^{-1}) = \text{Chl a} + \text{Chl b}$$

The content of acetone used:V

Leaf tissue weight used: W (۱)

اندازه‌گیری قند محلول برگ

برای اندازه‌گیری قند محلول برگ از روش اریگون استفاده شد (Irigoyen *et al.*, 1992). ۰/۵ گرم بافت تازه برگ با ۱۰ میلی‌لیتر محلول اتانول ۹۵ درصد در هاون چینی ساییده شده و عصاره بدست آمده به‌مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره با ۳ میلی‌لیتر معرف آنترون مخلوط و

برای ۱۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد در بن‌ماری قرار گرفت. پس از خنک شدن محلول، جذب آن در طول‌موج ۶۲۵ نانومتر قرائت گردید. برای تهیه معرف آنترون، ۰/۲ گرم آنترون (Merck Germany) در ۱۰۰ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک ۷۲ درصد سرد، روی یخ حل شد. در نهایت از فرمول (۲) برای محاسبه مقدار قند محلول برگ استفاده گردید.

$$TSS\ (mg.g^{-1}) = (625nm - 0.009) \times 0.002 \qquad (۲)$$

اندازه‌گیری شاخص‌های فلورسنس کلروفیل

برای اندازه‌گیری شاخص‌های مربوط به‌فلورسنس کلروفیل از دستگاه FluorPen FP 100 (Photon Systems Instruments, Drasov, Czech Republic) استفاده شد. اصول کار دستگاه فلورپن تاباندن نوری با طول‌موج ۶۵۰ نانومتر و شدت ۳۰۰۰ میکرومول فوتون در مترمربع در ثانیه به‌مدت ۱۰ ثانیه روی برگ‌هایی است که به‌مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی نگهداری شدند (به‌وسیله گذاشتن کلیپس روی برگ‌ها) (Avarseji *et al.*, 2015).

فلورسنس کلروفیل ناشی از بازتاب نور با طول‌موج بلندتر (۶۸۰–۷۴۰ نانومتر) توسط مولکول‌های کلروفیل مستقر در غشاء تیلاکوئید و مراکز واکنش است که فقط در فتوسیستم II اتفاق می‌افتد (Soltani, 2004)، لذا تجزیه و تحلیل آن اطلاعات مفیدی از ساختار و عملکرد دستگاه فتوسنتزی گیاه ارائه می‌دهد (Strasser and Stirbet, 2001). بروز پدیده فلورسنس کلروفیل شامل مراحل o، J، I و P است. این مراحل، فلورسنس کلروفیل را در زمان‌های صفر، ۲، ۳۰ و ۵۰ میلی‌ثانیه بعد از قرار گرفتن در معرض نور نشان می‌دهد (Strasser, 1995).

تجزیه آماری داده‌های حاصل با نرم افزار SPSS Ver.23 انجام و میانگین‌ها با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه شدند.

نتایج و بحث

تعداد برگ، سطح برگ، طول ریشه و تاریخ گلدهی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد، اثر نور روی تعداد برگ و سطح برگ و اثر GA_3 روی طول ریشه و اثر برهمکنش تیمارها روی تاریخ گلدهی گیاه معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین نشان داد بیشترین تعداد برگ تحت تیمار ۴۰: ۴۰: ۲۰، بالاترین سطح برگ در تیمار ۷۰: ۲۰: ۱۰، بیشترین طول ریشه از غلظت ۶۰ میلی‌گرم برلیتر GA_3 و نزدیکترین تاریخ تا گلدهی از برهمکنش تیمار ۷۰: ۲۰: ۱۰ و غلظت ۰ میلی‌گرم برلیتر GA_3 حاصل شد (جداول ۲، ۳ و ۴).

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر کیفیت نور، GA_3 و برهمکنش آنها بر تعداد برگ، سطح برگ، طول ریشه و تاریخ گلدهی گیاه سیکلمن

Table 1- ANOVA for the effect of light quality, GA3 and their interaction on leave number, leaf area, root length, and flowering date of Cyclamen plant

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی Df	میانگین مربعات Mean squares			
		تعداد برگ Leaf number	سطح برگ Leaf area	طول ریشه Root length	تاریخ گلدهی Flowering date
نور Light (L)	1	6.000*	2.383*	0.920ns	176.042ns
GA_3	3	0.333ns	14.994ns	1.468*	80.819ns
GA_3×L	3	0.333ns	0.989ns	0.818ns	697.931*
خطا Error	16	1.208	3.266	0.388	199.542
ضریب تغییرات C.V (%)		15.33	20.05	13.50	12.85

ns، * و **: به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد

ns , * and ** respectively insignificant and significant at 5% and 1%

جدول ۲- اثر کیفیت نور بر تعداد برگ و سطح برگ نشاء سیکلمن

Table 2– The effect of light quality on the leaf number and areaof Cyclamen seedlings

نور (سفید: قرمز: آبی) Light (White: Red: Blue)	تعداد برگ Leaf number	سطح برگ Leaf area (square centimeters)
70: 20: 10	6.67b	9.80a
40: 40: 20	7.67a	8.22b

در هر ستون، میانگین‌های دارای حروف مشترک از نظر آماری در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

In each column the means including the common letters have not statistically significant differences with each other based on DMRT at 5% of probability level.

جدول ۳- اثر غلظت‌های مختلف GA_3 بر طول ریشه نشاء سیکلمن

Table 3– The effect of different concentrations of GA_3 on the root length of Cyclamen seedlings

GA_3 (mg. l^{-1})	0	20	40	60
طول ریشه Root length (cm)	4.0^{b}	4.47^{ab}	4.83^{a}	5.15^{a}

در ردیف، میانگین‌های دارای حروف مشترک از نظر آماری در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

In row the means including the common letters have not statistically significant differences with each other based on DMRT at 5% of probability level.

جدول ۴- اثر برهمکنش کیفیت نور و GA_3 بر تاریخ گلدهی گیاه سیکلمن

Table 4- The effect of light quality interaction and GA_3 on the flowering date of Cyclamen plant

تیمار Treatment	GA_3 (mg.l^{-1}) 0	20	40	60
70: 20: 10 (White: Red: Blue) (سفید: قرمز: آبی)10: 20: 70	90.33^{b}	107.33^{ab}	124.67^{a}	106.67^{ab}
40: 40: 20 (White: Red: Blue) (سفید: قرمز: آبی)20: 40: 40	123.67^{a}	108.33^{ab}	105.67^{ab}	113^{ab}

در برهمکنش هر ردیف و ستون، میانگین‌های دارای حروف مشترک از نظر آماری در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

In the interaction of each row and column the means including the common letters have not statistically significant differences with each other based on DMRT at 5% of probability level.

بر اساس نتایج این پژوهش، بیشترین تعداد برگ نشاء سیکلمن در تیمار ۴۰: ۴۰: ۲۰ برابر ۷ بدست آمد و کمترین تعداد برگ نشاء در تیمار ۷۰: ۲۰: ۱۰ برابر ۶ مشاهده شد. تعداد برگ گل قاصدک تحت تاثیر نور قرمز (۶۶۰ نانومتر)، آبی (۴۶۰ نانومتر) و قرمز + آبی (با نسبت ۴۰: ۶۰) LED نسبت به‌گیاهان شاهد رشد یافته زیر لامپ‌های فلورسنت به‌ترتیب ۶/۸، ۴/۲ و ۵/۵ درصد افزایش یافت (Jai Hyunk *et al.*, 2012). همچنین تعداد برگ گل حسن یوسف و وریزیا در تیمار نور آبی + قرمز LED افزایش یافته است (Javadi Asayesh, 2019; Dehkhodai *et al.*, 2017; Azad, 2011).

نتایج این پژوهش نشان داد بیشترین سطح برگ نشاء سیکلمن تحت تیمار نوری ۷۰: ۲۰: ۱۰ برابر ۹/۸ سانتی‌متر مربع و کمترین سطح برگ تحت تیمار ۴۰: ۴۰: ۲۰ برابر ۸/۲ سانتی‌متر مربع بدست آمد. در آزمایشی GA_3 در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر در برخی گونه‌های سیکلمن استفاده و نتایج نشان داد غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم برلیتر GA_3 تعداد و سطح برگ آنها را افزایش می‌دهد (Mihaiela *et al.*, 2020). نتایج پژوهش حاضر مبنی بر عدم تاثیر تیمار GA_3 و برهمکنش آن با نور بر سطح برگ، با نتایج آزمایش فوق مطابقت ندارد، شاید به‌این دلیل که در گونه‌های مختلف سیکلمن، سن گیاه، تعداد برگ‌ها یا اندازه مریستم بر عملکرد GA یا تاثیر آن بر بیان ژن *FLOWERING LOCUS T* برای افزایش سطح برگ موثر است (Zulfiqar *et al.*, 2019).

طول‌موج‌های مختلف نور آبی (۴۵۰ ، ۴۵۵ یا ۴۷۰ نانومتر) و طیف قرمز (۶۶۰ نانومتر) LED به‌طور قابل توجهی باعث افزایش سطح برگ در گوجه‌فرنگی و خیار می‌شوند (Javanmardi and Emami, 2013). رشد مناسب گیاهان به‌وسیله ترکیبات طیفی منبع نور و شدت نور رسیده در سطح برگ (شدت جریان فوتون فتوسنتزی (PPFD)) تحت تاثیر قرار می‌گیرد (Pinho *et al.*, 2004). نور LED آبی بر تمایز سلول‌های مزوفیل برگ و توسعه فضاهای بین سلولی و در نتیجه بر سطح برگ و ضخامت آن موثر است (Fukuda *et al.*, 2016). سطح برگ بزرگتر میزان بیشتری از پرتوهای نوری را دریافت کرده که منجر به‌افزایش در توده گیاهی و در نتیجه فرآیندهای فتوسنتزی می‌شود (Lin *et al.*, 2013). جذب میزان بالایی از نور قرمز توسط گیرنده‌های گیاهی موجب تولید هورمون گیاهی موسوم به‌متاتوپولین می‌گردد که محرک تقسیم سلولی و گسترش برگ است (Steele, 2004). افزودن نور سفید LED به‌طیف ترکیبی، به‌دلیل نفوذ عمیق‌تر به‌تاج و برگ گیاه، رشد را افزایش داده و فتوسنتز را در مقایسه با طیف آبی + قرمز افزایش می‌دهد (Lin *et al.*, 2013).

طبق نتایج این پژوهش بیشترین طول ریشه در غلظت ۶۰ میلی‌گرم برلیتر GA_3 برابر ۵/۱ سانتی‌متر و کمترین آن در تیمار صفر GA_3 برابر ۴ سانتی‌متر بدست آمد. در گونه *C. hederifolium* استفاده از ۵۰ میلی‌گرم برلیتر GA_3 طول ریشه را افزایش داد. همچنین گیاهان سیکلمن که با غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم برلیتر GA_3 محلول‌پاشی شده بودند طول ریشه بیشتری نشان دادند (Mihaiela *et al.*, 2020). تنظیم‌کننده‌های رشد خانواده جیبرلین و به‌ویژه GA_3 از طریق تحریک تقسیم میتوزی سلول‌های قسمت‌های مختلف گیاه (از جمله ریشه برای کمک به‌جذب بهتر آب و مواد مغذی) بر افزایش رشد آنها موثر هستند (Salachna *et al.*, 2020).

نتایج پژوهش حاضر نشان داد نزدیکترین تاریخ تا گلدهی

سیکلمن، از زمان انتقال گیاه تازه جوانه‌زده به‌زیر نورهای LED، از برهمکنش تیمار ۷۰: ۲۰: ۱۰ و غلظت ۰ میلی‌گرم برلیتر GA_3 برابر ۹۰ روز و دیرترین تاریخ از برهمکنش همین تیمار نور و غلظت ۴۰ میلی‌گرم برلیتر GA_3 برابر ۱۲۴ روز حاصل شد. در پژوهشی اثر برهمکنش نور LED با طیف قرمز + سفید از اواخر پاییز تا اوایل بهار و GA_3 در غلظت ۵۰ تا۱۵۰ میلی‌گرم برلیتر برای گل کوکب (*Dahlia* sp.)، ۵۰ تا ۲۵۰ میلی‌گرم برلیتر برای لیاتریس (*Liatris spicata*) و ۴۰ تا ۳۴۰ میلی‌گرم برلیتر برای لیلیوم آسیایی (*Lilium asiatica*) بررسی شد و نتایج نشان داد که برهمکنش نور با GA_3 بر افزایش تعداد گل در گل کوکب و افزایش تعداد گل و قطر آن در لیلیوم قابل توجه است. به‌ویژه برای گل‌های لیاتریس و گل کوکب، گلدهی دو هفته زودتر اتفاق می‌افتد (Taylor *et al.*, 2019).

اثر لامپ‌های LED بر گلدهی *Cyclamen persicum* نشان داد که نور آبی + قرمز به‌مدت ۱۰ ساعت در روز باعث القای گل و افزایش تعداد جوانه گل می‌شود ولی نور آبی و قرمز به‌تنهایی گلدهی را کاهش می‌دهند (Farjadi Shakib *et al.*, 2012). برهمکنش نور LED و GA_3 باعث رشد گیاه و تسریع گلدهی در گل محمدی و لیلیوم می‌شود (Yamaguchi and Kamiya, 2001). GA_3 در بافت‌های در حال رشد، برگ‌های جوان و گل‌ها تقسیم و توسعه سلول‌ها را تحریک و شروع گلدهی، رشد گل و بیان جنسیت را تنظیم می‌کند (Punetha *et al.*, 2018). به‌طور کلی طیف نور بهینه در مرحله نشایی بر فعالیت‌های فیزیولوژیکی گیاه مثل سنتز رنگیزه‌ها و فتوسنتز تا زمان گلدهی موثر است (Ghasemi Qahsareh and Kafi, 2011). اثر متقابل نور LED و GA_3 در تاثیر بر گلدهی در مسیرهایی که خواب و جوانه‌زنی بذر را تنظیم می‌کند دخالت دارد (Taylor *et al.*, 2019).

کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کاروتنوئید و قند محلول برگ

جدول تجزیه واریانس نشان داد، اثر برهمکنش نور و GA_3 روی کلروفیل b و قند محلول برگ معنی‌دار بود. اما تیمارهای به‌کار رفته و برهمکنش آنها اثر معنی‌داری بر کلروفیل a، کلروفیل کل و کاروتنوئید نداشتند (جدول ۵). نتایج مقایسه میانگین نشان داد بیشترین مقدار کلروفیل b و قند محلول برگ از برهمکنش تیمار ۴۰: ۴۰: ۲۰ و غلظت ۰ میلی‌گرم برلیتر GA_3 حاصل شد (جداول ۶ و ۷).

جدول ۵- تجزیه واریانس اثر کیفیت نور، GA_3 و برهمکنش آنها بر کلروفیل b و قند برگ نشاء سیکلمن

Table 5- ANOVA for the effect of light quality, GA3 and their interaction on chlorophyll b and leaf sugar of Cyclamen

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی Df	میانگین مربعات Mean squares کلروفیل b Chlorophyll b	 قند برگ Leaf sugar
نور Light (L)	1	0.022^{***}	0.039^{***}
GA_3	3	0.003^{*}	0.005^{ns}
GA_3×L	3	0.004^{***}	0.018^{***}
خطا Error	16	0.001	0.003
ضریب تغییرات C.V (%)		10.52	8.94

^{ns}، * و ***: به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد

^{ns} , * and *** respectively insignificant and significant at 5% and 1%

جدول ۶- اثر برهمکنش کیفیت نور × غلظت GA_3 بر میزان کلروفیل b نشاء سیکلمن

Table 6 – The interaction effect of light quality ×GA_3 concentration on chlorophyll b content of Cyclamen seedlings

تیمار Treatment	GA_3 ($mg.l^{-1}$) 0	20	40	60
(سفید: قرمز: آبی)10: 20: 70 70: 20: 10 (White: Red: Blue)	0.23^{e}	0.25^{de}	0.27^{cd}	0.33^{ab}
(سفید: قرمز: آبی)20 :40 :40 40: 40: 20 (White: Red: Blue)	0.35^{a}	0.33^{ab}	0.30^{bc}	0.34^{ab}

در برهمکنش هر ردیف و ستون، میانگین‌های دارای حروف مشترک از نظر آماری در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

In the interaction of each row and column the means including the common letters have not statistically significant differences with each other based on DMRT at 5% of probability level.

جدول ۷- اثر برهمکنش کیفیت نور × غلظت GA_3 برقند محلول برگ نشاء سیکلمن

Table 7- The interaction effect of light quality ×GA_3 concentrations on the soluble sugar of the Cyclamen leaf

تیمار Treatment	GA_3 ($mg.l^{-1}$) 0	20	40	60
10: 20: 70 (سفید: قرمز: آبی) 70: 20: 10 (White: Red: Blue)	0.23^{c}	0.33^{bc}	0.44^{ab}	0.33^{bc}
20: 40: 40 (سفید: قرمز: آبی) 40: 40: 20 (White: Red: Blue)	0.53^{a}	0.40^{ab}	0.42^{ab}	0.38^{ab}

در برهمکنش هر ردیف و ستون، میانگین‌های دارای حروف مشترک از نظر آماری در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

In the interaction of each row and column the means including the common letters have not statistically significant differences with each other based on DMRT at 5% of probability level.

نتایج پژوهش حاضر نشان داد بیشترین میزان کلروفیل b از برهمکنش تیمار نور ۴۰: ۴۰: ۲۰ و غلظت ۰ میلی‌گرم برلیتر GA_3 برابر ۰/۳۵ و کمترین مقدار آن از برهمکنش تیمار ۷۰: ۲۰: ۱۰ و غلظت ۰ میلی‌گرم برلیتر GA_3 برابر ۰/۲۳ میلی‌گرم بر گرم بدست آمد. کلروفیل b در برگ‌های گیاهچه برنج رقم *IR1552* (*purple leaf*) زیر نور قرمز + آبی LED از نور قرمز و آبی تکی بیشتر بود (Chang-Chang *et al.*, 2014). کاربرد GA_3 در گیاه بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.) میزان کلروفیل a، b، ترکیبات فنلی و سرعت واکنش هیل را افزایش می‌دهد (Abbaspour and Rezaei, 2015). در گیاهچه‌های رز رقم سامورایی زیر تیمار نور LED با طیف‌های رنگی قرمز، آبی و قرمز + آبی، میزان کلروفیل b تغییر قابل توجهی نداشته است (Bayat *et al.*, 2020).

رشد و نمو و فتوسنتز گیاهان متاثر از عوامل محیطی مختلف است. در طیف قرمز + آبی، سطح شار فوتون فتوسنتزی (PPFD) به‌حد معینی که برای سنتز و فعالیت کافی رنگدانه‌های فتوسنتزی و حامل‌های الکترون لازم است، می‌رسد (Chang-Chang *et al.*, 2014). نور قرمز با حفظ رنگدانه‌های فتوسنتزی اثر مشخص‌تری بر شاخص‌های فتوسنتزی دارد و با اثر بر پیش‌سازهای کلروفیل مثل پرتوپورفیرین، پرتوکلروفیلید و ۵-آمینولئونیک باعث افزایش بیوسنتز کلروفیل می‌شود (Fan *et al.*, 2013). در واقع نور قرمز برای فتوسنتز و نور آبی برای سنتز کلروفیل و کلروپلاست، باز شدن روزنه و فتومورفوژنز مورد نیاز است (Singh *et al.*, 2014). به‌طور کلی توان فتوسنتزی گیاه با افزایش میزان کلروفیل برگ، به‌دلیل باز شدن بیشتر روزنه‌ها برای دریافت CO_2 افزایش می‌یابد (Kapotis *et al.*, 2003).

بر اساس نتایج این پژوهش بیشترین میزان قند محلول برگ نشاء سیکلمن از برهمکنش تیمار ۴۰: ۴۰: ۲۰ و غلظت ۰ میلی‌گرم برلیتر GA_3 برابر ۰/۵۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و کمترین میزان آن از برهمکنش تیمار ۷۰: ۲۰: ۱۰ و غلظت ۰ میلی‌گرم بر لیتر GA_3 برابر ۰/۲۳ حاصل شد. بیشترین قند محلول برگ در گل رز رقم سامورایی زیر تیمار نور قرمز LED و کمترین آن در تیمار نور آبی و آبی + قرمز بدست آمده است (Bayat *et al.*, 2020). GA_3 سطوح mRNA را در سلول افزایش داده و لذا نسخه‌برداری ژن‌های مربوط به‌سنتز آلفاآمیلاز که باعث هیدرولیز مواد ذخیره‌ای و تبدیل نشاسته به‌قند می‌شوند را زیاد می‌کند (Omrani *et al.*, 2015). کربوهیدرات‌ها بیشتر تحت نور آبی در برگ‌ها جمع می‌شوند، هرچند نور قرمز هم باعث تجمع کربوهیدرات‌ها می‌شود، که دلیل اصلی آن جلوگیری از انتقال محصولات فتوسنتزی از برگ است (Wang *et al.*, 2009).

V_J، Ψ_0، φ_{E0} و ABS/RC

جدول تجزیه واریانس نشان داد اثر GA_3 روی شاخص‌های V_J، Ψ_0 و φ_{E0} و اثر برهمکنش تیمارها بر ABS/RC معنی‌دار بود (جدول ۸). نتایج مقایسه میانگین نشان داد بیشترین اعداد بدست آمده برای Ψ_0 و φ_{E0} در تیمار صفر GA_3 و بیشترین مقدار V_J از غلظت ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر GA_3 بدست آمد. بیشترین مقدار ABS/RC از برهمکنش تیمار ۴۰: ۴۰: ۲۰ و غلظت ۶۰ میلی‌گرم برلیتر GA_3 حاصل شد (جداول ۹ و ۱۰).

بر اساس نتایج این پژوهش بیشترین میزان شاخص V_J از غلظت ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر GA_3 برابر ۰/۵۱ و کمترین میزان آن در تیمار صفر GA_3 برابر ۰/۴۶ بدست آمد. افزایش V_J در پسته اهلی رقم سرخس نشان می‌دهد مراکز واکنش در انتقال الکترون به Q_A فعالیت بهتری دارند (Fahimi kuyerdi and Shamshiri, 2016). فلورسنس متغیر نسبی از اولین پالس نوری اندازه‌گیری می‌شود. افزایش V_J باعث افزایش عملکرد دستگاه فتوسنتزی (P_I) می‌شود (Strasser and Stirbet, 2001). به‌طور کلی افزایش شاخص عملکرد دستگاه فتوسنتزی، نشان‌دهنده توانایی نشاء گیاه (سیکلمن در این پژوهش) در استفاده بهتر از شرایط محیطی اعمال شده در تولید مواد کربوهیدراتی بیشتر و بهبود کیفیت رشد است (Hassibi, 2011) و به‌ساختار دستگاه فتوسنتزی، واکنش‌های فتوشیمیایی، تثبیت کربن و انتقال حدواسطهای فتوسنتزی بین اجزاء سلولی بستگی دارد (Strasser, 1995).

جدول ۸- تجزیه واریانس اثر کیفیت نور، GA_3 و برهمکنش آنها بر V_J، PSI-O، φ-EO و ABS/RC نشاء سیکلمن

Table 8- ANOVA for the effect of light quality, GA3 and their interaction on VJ, Ψ -O, φEO and ABS/RC of Cyclamen seedling

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی Df	میانگین مربعات Mean squares			
		V_J	Ψ-O	φ-EO	ABS/RC
نور Light (L)	1	0^{ns}	0.0003^{ns}	0.0001^{ns}	0.006^{ns}
GA_3	3	0.003^{*}	0.003^{*}	0.003^{*}	0.002^{ns}
GA_3×L	3	0^{ns}	0.0005^{ns}	0.001^{ns}	0.015^{*}
خطا Error	16	0.001	0.001	0.001	0.004
ضریب تغییرات C.V (%)		6.46	6.19	7.67	2.93

^{ns} و *: به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطوح احتمال ۵ درصد

^{ns} and * respectively insignificant and significant at 5%

جدول ۹- اثر غلظت‌های مختلف GA_3 بر V_J، Ψ-O و φ-EO نشاء سیکلمن

Table 9- The effect of GA_3 concentrations on V_J, Ψ-O and φ-EO of Cyclamen seedlings

GA_3 (mg. L^{-1})	0	20	40	60
V_J	0.46^{b}	0.49^{ab}	0.51^{a}	0.50^{a}
Ψ -O	0.54^{a}	0.51^{ab}	0.49^{b}	0.50^{b}
φ-EO	0.44^{a}	0.41^{ab}	0.39^{b}	0.40^{b}

در هر ردیف، میانگین‌های دارای حروف مشترک از نظر آماری در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

In each row the means including the common letters have not statistically significant differences with each other based on DMRT at 5% of probability level.

جدول ۱۰- اثر برهمکنش کیفیت نور × غلظت GA_3 بر ABS/RC نشاء سیکلمن

Table 10– The interaction effect of light quality ×GA_3 concentration on ABS / RC of Cyclamen seedlings.

تیمار Treatment	GA_3 (mg.l^{-1})			
	0	20	40	60
10: 20: 70 (سفید: قرمز: آبی) 70: 20: 10 (White: Red: Blue)	2.14^{b}	2.14^{b}	2.19^{ab}	2.09^{b}
20: 40: 40 (سفید: قرمز: آبی) 40: 40: 20 (White: Red: Blue)	2.12^{b}	2.17^{ab}	2.13^{b}	2.27^{a}

در برهمکنش هر ردیف و ستون، میانگین‌های دارای حروف مشترک از نظر آماری در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

In the interaction of each row and column the means including the common letters have not statistically significant differences with each other based on DMRT at 5% of probability level.

در این پژوهش بیشترین میزان شاخص φ-E0 در تیمار صفر GA_3 برابر ۰/۴۴ و کمترین مقدار آن از غلظت ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر GA_3 برابر ۰/۳۹ بدست آمد. φ-E0 در گل‌های همیشه‌بهار که زیر نور قرمز LED رشد کردند کاهش یافت (Aliniaeifard *et al.*, 2018). φ-E0 نشان دهنده میزان جریان الکترون به‌میزان انرژی جذبی است، که کاهش آن به‌معنی کاهش در میزان جریان الکترون به‌سمت ناقل‌های بعدی و افزایش آن به‌معنی افزایش شاخص عملکرد دستگاه فتوسنتزی است (Esfandiari and Enayati, 2014).

در این پژوهش بیشترین میزان شاخص Ψ-0 در تیمار صفر GA_3 برابر ۰/۵۴ بدست آمد. Ψ-0 حداکثر عملکرد کوانتومی فتوشیمیایی اولیه را در دستگاه فتوسنتزی برگ نشان می‌دهد و افزایش آن با افزایش شاخص عملکرد دستگاه فتوسنتزی گیاه برابر است (Yousefinia and Qasemian, 2016). GA_3 خارجی مقدار کلروفیل و محتوای پروتئین محلول را صرفاً در برگ‌های برخی گیاهان افزایش داده و در بازتاب بیشتر نور و فلورسنس کلروفیل و در نهایت عملکرد فتوسیستم II دخالت می‌کند (Lim *et al.*, 2004).

بیشترین میزان شاخص ABS/RC در پژوهش حاضر از برهمکنش تیمار ۴۰: ۴۰: ۲۰ و غلظت ۶۰ میلی‌گرم برلیتر GA_3 برابر ۲/۲۷ و کمترین میزان آن از برهمکنش تیمار ۷۰: ۲۰: ۱۰ و غلظت ۶۰ میلی‌گرم برلیتر GA_3 برابر ۲/۰۹ حاصل شد. ABS/RC نشان دهنده تراکم مرکز واکنش به‌ازاء مقدار انرژی نورانی جذب شده است که مقدار آن تحت تنش‌های محیطی کاهش یافته و بالا بودن این شاخص به‌معنی افزایش عملکرد فتوسنتز است (Mehta *et al.*, 2010). در بررسی شاخص‌های فتوسنتزی در چندین رقم گیاه داروئی ریحان بنفش و سبز کشت شده در زیر پنج طیف نوری LED از جمله سفید (۴۰۰–۷۳۰ نانومتر)، آبی (۴۰۰– ۵۰۰ نانومتر)، قرمز (۶۰۰ – ۷۰۰ نانومتر) و دو طیف ترکیبی آبی+ قرمز با نسبت‌های ۵۰: ۵۰ و ۳۰: ۷۰ با تراکم شار فوتون فتوسنتزی یکسان، شاخص ABS/RC به‌ویژه در ارقام ریحان بنفش زیر طیف قرمز تکی افزایش ولی شاخص عملکرد (P_I) در همه ارقام سبز و بنفش زیر همین طیف کاهش یافت (Hosseini *et al.*, 2019).

استفاده از نور تک‌رنگ LED در طول رشد گیاهان در مقایسه با طیف مرئی کامل (نور سفید) یا نورهای قرمز + آبی، منجر به‌نقص در زنجیره انتقال الکترون می‌شود (Seif *et al.*, 2018). رنگدانه‌های فتوسنتزی و شاخص‌های فلورسنس کلروفیل دارای الگوی جذب طول‌موج‌های خاص هستند (Chang-Chang *et al.*, 2014). توسعه دستگاه فتوسنتزی توسط طیف نوری در گیاهان تحریک می‌شود (Massa *et al.*, 2008). اعمال تیمار نور با کیفیت نامناسب یا هورمون در غلظت بسیار کم یا هر تنش محیطی دیگر، به‌دلیل کم شدن تراکم مولکول‌های آنتن یا تعداد کلروفیل در دریافت نور باعث کاهش برخی شاخص‌های فلورسنس کلروفیل می‌شوند (Strasser, 1995).

نتیجه‌گیری

افزایش P_I (شاخص عملکرد دستگاه فتوسنتزی گیاه) یعنی اینکه گیاه در شرایطی به‌سر می‌برد که فتوسنتز نرمالی دارد. به‌طور کلی افزایش این شاخص نشان‌دهنده توانایی نشاء یا گیاه بالغ در استفاده بهتر از شرایط محیطی برای تولید مواد کربوهیدراتی بیشتر و بهبود کیفیت رشد است. ارتباط بین افزایش میزان کلروفیل b، قند محلول برگ و شاخص ABS/RC همگی در تیمار۴۰: ۴۰: ۲۰ ضمن تایید این همبستگی، نشان می‌دهد از آنجا که بیشترین جذب نور توسط کلروفیل در طیف نوری قرمز و آبی صورت می‌گیرد تیمار ۴۰: ۴۰: ۲۰ نسبت به۷۰: ۲۰: ۱۰ با مقادیر بیشتر نور قرمز و آبی بهتر است. تاثیر نور در هر کیفیتی یا GA_3 در هر غلظتی بر صفات مربوط به‌کیفیت رشد نشاء یا گیاه بالغ، با ژنوتیپ گونه گیاهی ارتباط مستقیم داشته و به‌الزام نمی‌توان تأثیرات خاصی از آنها را تعیین کرد، ضمن اینکه نورهای تکمیلی LED اگرچه می‌توانند در برخی صفات منجر به‌افزایش کیفیت بیشتر نشاء سیکلمن گردند اما فقط در صورت جبران سایر هزینه‌های تولید از جمله مصرف برق استفاده از آنها منطقی است. لازم به‌ذکر است شاخص‌های فلورسنس کلروفیل نیز از نظر تاثیر بر عملکرد دستگاه فتوسنتزی مستقل از یکدیگر عمل می‌کنند.

منابع

1. Arteca R.A. 2014. Physiological foundations of the use of plant growth materials. (Translated by Assadollah Hejazi and Mohammad Kafashi Sedghi). Tehran. University of Tehran Press 3:341. (In Persian)
2. Abidi F., Girault T., Douillet O., Guillemain G., Sintes G., Laffaire M., Ben H., Ahmed S., Smiti S., Huche L., and Leduc N. 2012. Blue light effects on rose photosynthesis and photomorphogenesis. Plant Biology 67-74. DOI: 10.1111/j.1438-8677.2012.00603.x.
3. Azad M.O.K.I.J., Chun J.H., Jeong S.T., Kwon and Hwang J.M. 2011. Response of the growth characteristics and phytochemical contents of pepper (*Capsicum annuum* L.) seedlings with supplemental LED light in glass house. Bio-Environment Control 20(3): 182-188.
4. Avarseji Z., Rashed Mohassel M., Nezami A., Abbaspoor M., and Nasiri Mahallati M. 2015. Investigation of the Effects of Clodinafop and Dicamba+2, 4-D on Kautskey Curve and Chlorophyll Fluorescence. Journal of Plant Protection 29(1): 32-42. (In Persian). DOI: 10.22067/jpp.v29i1.48540.
5. Abbaspour H., and Rezaei H. 2015. Effects of gibberellic acid on Hill reaction, photosynthetic Pigment and phenolic compounds in Moldavian dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.) in different drought stress levels. Journal of Plant Research 27(5): 893-903. (In Persian)
6. Aliniaeifard S., Seifi M., Arab M., Mehrjerdi M.Z., Li T., and Lastochkina K. 2018. Growth and photosynthetic performance of Calendula officinalis under monochromatic red light. International Journal of Horticultural Science and Technology 1: 123-132. DOI:10.22059/IJHST.2018.261042.248.
7. Bayat L., Arab M., and Aliniaeifard S. 2020. Effects of different light spectra on high light stress tolerance in rose plants (*Rosa hybrida* cv. '*Samurai*'). Journal of Plant Process and Function 9(36): 93-103. (In Persian)

8. Chang-Chang C., Meng-Yuan H., Kuan-Hung L., Shau-Lian W., Wen-Dar H., and Chi-Ming Y. 2014. Effects of light quality on the growth, development and metabolism of rice seedlings (*Oryza sativa* L.). Research Journal of Biotechnology 9(4): 15-24.
9. Dole J., and Wilkins H. 2004. Floriculture Principles and Species. Prentice-Hall 1021.
10. Dehkhodai P., Rizi S., and Ghasemi Ghehsareh M. 2017. Investigation of quantity and quality of seedlings produced by Hassan Yousef, Atlas and geranium flowers under different quality and intensities of LED light. Master Thesis in Ornamental Plants. School of Agriculture. Shahrekord University. Iran 75.
11. Esfandiari A., and Enayati V. 2014. Study of the variation in chlorophyll a fluorescence parameters in two durum wheat cultivars in response to salinity. Journal of Plant Research, 26(4): 375-386. (In Persian)
12. Fukuda M., Ajima C., Yukawa T., and Olsen J. 2016. Antagonistic action of blue and red light on shoot elongation in petunia depends on gibberellin, but the effects on flowering are not generally linked to gibberellin. Environmental and Experimental Botany 121: 102-111. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2015.06.014.
13. Fahimi kuyerdi F., and Shamshiri M.H. 2016. Comparison of photosystem II efficiency in four Pistachio rootstocks under drought stress using chlorophyll fluorescence technique. Journal of Plant Process and Function 5(17): 95-108. (In Persian)
14. Fan X.X., Xu Z.G., Liu X.Y., Tang C.M., Wang L.W., and Han X.L. 2013. Effects of light intensity on the growth and leaf development of young tomato plants grown under a combination of red and blue light. Scientia Horticulturae 153(1): 50-55. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.01.017.
15. Farjadi Shakib M., Naderi R., and Mashhadi Akbarjar M. 2012. The effect of spermidine foliar application on morphological, physiological and biochemical characteristics of Iranian cyclamen (*Cyclamen persicum* Mill). Journal of Plant Ecophysiology 13: 96-113.
16. Ghasemi Ghehsareh M., and Kafi M. 2011. Scientific and practical floriculture. Ghasemi Publications 2: 394-399. (In Persian)
17. Hassibi P. 2011. Chlorophyll fluorescence. Available at https://paymanhassibi.blogfa.com/post/8. (Visited 25 September 2020).
18. Hosseini A., Mehrjerdi M.Z., Aliniaeifard S., and Seif M. 2019. Photosynthetic and growth responses of green and purple basil plants under different spectral compositions. Physiology and Molecular Biology of Plants 1: 741-752. DOI:10.1007/s12298-019-00647-7.
19. Irigoyen J.J., Emerich D.W., and Sanchez-Diaz M. 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medcago sativa*) plants. Physiologia Plantarum 84: 55-60. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1992.tb08764.x.
20. Javadi Asayesh A. 2019. The effect of complementary light spectra on vegetative growth of Verizia, 11th Iranian Congress: Horticultural Sciences, Urmia, Urmia University.
21. Jai Hyunk R., Kyoung Sun S., Gab Lim C., Eui Shik R., Sheong Chun L., Seong Kyu C., Si-Yong K., and Chang-Hyu B. 2012. Effects of LED light illumination on germination, growth and anthocyanin content of dandelion (*Taraxacum officinale*). Korean Journal of Plant Research 25(6): 731-738. DOI:10.7732/kjpr.2012.25.6.731.
22. Javanmardi J., and Emami S. 2013. Response of tomato and pepper transplants to light spectra provided by light emitting diodes. International Journal of Vegetable Science 19: 138-149. DOI:10.1080/19315260.2012.684851.
23. Kapotis G., Zervoudakis G., Veltsistas T., and Salahas G. 2003. Comparison of chlorophyll meter readings with leaf chlorophyll concentration in Amaranthus vlitus: Correlation with physiological processes. Russian Journal of Plant Physiology 50(3): 395-397. DOI:10.1023/A:1023886623645.
24. Lim S., Hahn E.J., Heo J.W., and Peak K.Y. 2004. Effect of LEDs on net photosynthetic rate, growth and leaf stomata of chrysanthem um plantlets *in vitro*. Scientia Horticulturae 101: 143-151. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2003.10.003.
25. Lin K.H., Huang M.Y., Huang W.D., Hsu M.H., Yang Z.W., and Yang C.M. 2013. The effects of red, blue, and white light-emitting diodes on the growth, development, and edible quality of hydroponically grown lettuce (*Lactuca sativa* L. var. *capitata*). Scientia Horticulturae 150: 86-91. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2012.10.002.
26. Lichenthaler H.K., and Wellburn A.R. 1983. Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. Biochemical Society Transactions 11: 591-592. https://doi.org/10.1042/bst0110591.
27. Morrow R.C. 2008. LED Lighting in horticulture. HortSeience 43: 947-1950.
28. Mitchell C.A., Dzakovich M.P., Gomez C., Lopez R., Burr J.F., Hernandez R., Kubota C., Currey C.J., Meng Q., Runkle E.S., Bourget C.B., Morrow R.C., and Both A.J. 2015. Light emitting diodes in Horticulture. Horticultural Reviews 43: 10-102. doi:10.1002/9781119107781.ch01.
29. Massa G.D., Kim H.H., Wheeler R.M., and Mitchell C.A. 2008. Plant productivity in response to LED lighting. HortScience 43: 1951-1956. https://doi.org/10.21273/HORTSCI.43.7.1951.

30. Mehta P., Jajoo A., Mathur S., and Bharti S. 2010. Chlorophyll a fluorescence study revealing effects of high salt stress on photosystem II in wheat leaves. Plant Physiology and Biochemistry 48: 16-20. doi: 10.1016/j.plaphy.2009.10.006.
31. Mihaiela C.C., Doru Pamfil C.R.S., and RodicaMargaoan R. 2020. Gibberellic acid can improve seed germination and ornamental quality of selected cyclamen species grown under short and long days. Agronomy 1: 2-19. https://doi.org/10.3390/agronomy10040516.
32. Omrani B., Fallah S., and Taddayon M.R. 2015. The response of photosynthetic pigments and dry matter partitioning and nitrate content in purslane (*Portulaca oleracea*) to plant nutrition. Journal of Plant Process and Function 5(15): 181-194. (In Persian)
33. Punetha P., Rawat T., Bohra M., and Trivedi H. 2018. Effects of various concentrations of GA_3 and NAA on cuttings of hydrangea under shade net conditions. Journal of Hill Agriculture 9(1): 260-264. DOI : 10.5958/2230-7338.2019.00002.8.
34. Pinho P., Moisio O., Terti E., and Halonen L. 2004. Photobiological aspects of crops plants grown under light emitting diodes. In Proceedings of the CIE Symposium. On LED light source: Physical measurments and visual and photobiological assessment. Tokyo. Japan. Pp. 73-76.
35. Soltani A. 2004. Chlorophyll fluorescence and its application. Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources Publications 1: 19-22. (In Persian)
36. Strasser R.J., and Stirbet A.D. 2001. Estimiation of the energetic connectivity of PSII centres in plants using the fluorescence rise O-J-I-P. Fitting of experimental data to three different PSII models. Mathematics and Computers in Simulation 56: 451- 461. DOI:10.1016/S0378-4754(01)00314-7.
37. Strasser B.J. 1995. Measuring fast fluorescence transients to address environmental questions: the JIP test. Photosynthesis: from light to biosphere. KAP Press, Dordrecht 1: 977-980. DOI:10.1007/978-94-009-0173-5_1142.
38. Steele R. 2004. Understanding and measuring the shelf-life of food. Woodhead Publishing.
39. Salachna P., Mikiciuk M., Zawadzi A., nska Piechocki R., Ptak P., Mikiciuk G., Pietrak A., and Lopusiewicz L. 2020. Changes in growth and physiological parameters of amarine following an exogenous application of gibberellic acid and methyl jasmonate. Agronomy 2-13. https://doi.org/10.3390/agronomy10070980.
40. Singh D., Basu Ch., Meinhardt-Wollweber M., and Roth B. 2014. LEDs for energy efficient greenhouse lighting. Hannover Centre for Optical Technologies. 17: 30167. https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.04.117.
41. Seif M., Aliniaeifard S., Arab M., and Zare Mehrjerdi. 2018. Effect of light qualities on photosynthetic electron transport chain in chrysanthemum leaves. International Symposium on Innovation and New Technologies in Protected Cultivation. ISHS Acta Horticulturae 1271: 169-176. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2020.1271.24.
42. Toyoki K., Genhua N., and Michiko T. 2016. Plant Factory (An Indor Vertical Farming System for Efficient Quality Food Production). Academic Press. 401-405.
43. Taylor M., Bruce L.D., Niels M., and Mark P. 2019. Effect of LED lighting and gibberellic acid supplementation on potted ornamentals. Horticulturae 1: 1-10. https://doi.org/10.3390/horticulturae5030051.
44. Wang H., Gu M., Cui J., Shi K., Zhou Y., and Yu J. 2009. Effects of light quality on CO_2 assimilation, chlorophyll-fluorescence quenching and expression of Calvin cycle genes and carbohydrate accumulation in *Cucumis sativus.* Journal of Photochemistry and Photobiology B96(1): 30-37. DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2009.03.010.
45. Yamaguchi S., and Kamiya Y. 2001. Gibberellins and light-simulated seed germination. Journal of Plant Growth Regulators 20(1): 369–376. https://doi.org/10.1007/s003440010035.
46. Yousefinia M., and Qasemian A. 2016. Evaluation of salinity effects on photosynthesis and chlorophyll a fluorescence of barley (*Hordeum vulgare* L.). Journal of Developmental Biology 8(1): 35-44. (In Persian)
47. Zulfiqar F., Younis A., Abideen Z., Francini A., and Ferrante A. 2019. Bioregulators can improve biomass production, photosynthetic efficiency, and ornamental quality of *Gazania rigens* L. Agronomy 9: 773. https://doi.org/10.3390/agronomy9110773.

Journal of Horticultural Science
https:// jhs.um.ac.ir

Research Article
Vol. 36, No. 1, Spring 2022, p. 319-328

The Effect of Ultraviolet (UV) Radiation on Photosynthetic Pigments and Biochemical Parameters of *Portulaca oleracea*

Z. Shahzeidi[1], S. Hesami Tackallou[*2], L. Amjad[3], H. Zali[4], A. Iranbakhsh[5]

Received: 01-08-2021
Revised: 14-11-2021
Accepted: 13-12-2021
Available Online: 20-06-2022

How to cite this article:
Shahzaidi Z., Hesami Tackallou S., Amjad L., Zali H., and Iranbakhsh A. 2022. The Effect of Ultraviolet (UV) Radiation on Photosynthetic Pigments and Biochemical Parameters of *Portulaca oleracea*. Journal of Horticultural Science 36(1): 319-328. (In Persian with English Abstract)
DOI: 10.22067/JHS.2021.71685.1077

Introduction

UV-C (254-280 nm) and 280-320 nm) UV-B, UV-A (320-390nm) wavelengths are irradiated with three ultraviolet strips and have detrimental effects on the growth of a number of plants. Ultraviolet light is an important non-living factor that can stimulate the production of secondary metabolites, including antioxidant compounds in plants. Ozone depletion and its consequences, including direct UV radiation on the planet and its effects on crops and medicinal plants, are among the topics that have received very little study. Ultraviolet light in nature occurs only at low intensities, but if the inhibitory effect of the ozone layer in the stratosphere is significantly the result of nitrogen and hydrocarbon oxides the weaker the halogen, the higher its amount .

Materials and Methods

Portulaca oleracea seeds were prepared by Pakan Isfahan Company. The aim of this study was the effect of ultraviolet rays at different levels (UV-C: 0, 100, 200, 300, 400, 500, 600, and 700 nm) on the activity of photosynthetic pigments and biochemical traits of portulaca oleracea in factorial in a completely randomized design with three replications. After transferring the seeds of *portulaca oleracea*, the healthy and uniform seeds of this plant were sterilized in 15% sodium hypochlorite solution for 154 minutes and then washed thoroughly with distilled water and placed in a petri dish for germination. Moisture was supplied through filter paper soaked in distilled water. The seeds were planted in pots filled with cocopeat and perlite evenly and watered for 20 days with a half-strength Hoagland solution. Plants were grown for 20 days at a temperature of 30 ± 2 ° C and a light period of 8.16 (light / dark, respectively). Plants for one week, every other day, and for 3 minutes each time by two fluorescent lamps with a wavelength of 260 nm exposed to ultraviolet C (at a distance of 30 cm from the UV light source with an intensity of 27 (w / m2) were located. The traits studied in this study included chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll, carotenoids, phenol, flavonoids, and antioxidant activity. In this study, the effect of ultraviolet light on the activity of photosynthetic pigments and biochemical traits of *portulaca oleracea* was investigated factorially in a completely randomized design with three replications.

Results and Discussion

The results of the mean comparison showed that the UV treatment of chlorophyll a, b, total chlorophyll, carotenoid of portulaca oleracea was reduced compared to the control; However, UV treatment of portulaca oleracea significantly increased phenol, flavonoids, and antioxidants compared to the control. The effect of

1- Ph.D. Student in Biophysics, Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2- Assistant Professor, Department of Biology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
(*- Corresponding Author Email: s.hesamitakalloo@iauctb.ac.ir)
3- Assistant Professor, Department of Biology, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran
4- Assistant Professor, Proteomics Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
5- Professor, Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

different doses of ultraviolet rays on phenol and portulaca oleracea antioxidants showed that the UV-C highest and lowest were 700 and 100 nm, respectively. Decreases in carotenoid content can result in either inhibition of pigment synthesis or their breakdown and degradation. The results of this report indicate significant changes in phenols and flavonoids as compounds it absorbed ultraviolet rays compared to control cells.

Conclusion

It can be said that excessive exposure to radiation may affect chlorophyll levels by inhibiting chlorophyll biosynthesis or accelerating its degradation. Oxygen is an electron receptor in the electron transport system that produces energy from adenosine triphosphate (ATP) in the body. Under certain conditions, oxygen can be converted to a single electron, creating free radicals. When oxygen is converted to a single electron, it is called active oxygen (ROS). These free radicals cause oxidative stress in plants which oxidative stress leads to damage to macromolecules such as DNA, proteins and so on. Environmental stresses, including UV radiation, produce active oxygen species (ROS) such as hydrogen peroxide (H_2O_2), superoxide (O_2^-), and hydroxyl radicals (OH), which cause oxidative stress and cause damage to cells, such as DNA. And cause the destruction of these compounds. The plant contains compounds that act as active antioxidants and sweep away active oxygen. In the present study, the observed increase in phenols, flavonoids and antioxidants indicates an increase in the production of free radicals under ultraviolet radiation and shows that the production of these radicals is more than the plant's defense capacity and has caused damage to plant biological membranes. In summary, the application of controlled ultraviolet light stress can provide a new alternative strategy to increase the productivity of the portulaca oleracea plant. Modulating UV-C light in agricultural systems is a promising tool to increase crop production.

Keywords: Antioxidant, Extract, Flavonoid, Phenol

نشریه علوم باغبانی
https:// jhs.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۶، شماره ۱، بهار ۱۴۰۱، ص ۳۲۸-۳۱۹

تأثیر اشعه ماورابنفش (UV-C) بر رنگیزه‌های فتوسنتزی و پارامترهای بیوشیمیایی گیاه خرفه (*Portulaca oleracea*)

زینب السادات شاه زیدی[۱]- سعید حسامی تکلو[۲*]- لیلا امجد[۳]- حکیمه زالی[۴]- علیرضا ایرانبخش[۵]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۵/۱۰
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۹/۲۲

چکیده

اشعه ماورا بنفش یک عامل غیرزنده مهم است که می‌تواند تولید متابولیت‌های ثانویه، از جمله ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در گیاهان را تحریک کند. تخریب لایه ازن و پیامدهای ناشی از آن ازجمله تابش مستقیم اشعه ماورای بنفش بر کره زمین و اثرات آن بر گیاهان زراعی و داروئی از جمله مباحثی است که مطالعات بسیار کمی روی آن صورت گرفته است. هدف از این پژوهش تاثیر اشعه ماورا بنفش در سطوح مختلف (UV-C: صفر، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰، ۵۰۰، ۶۰۰ و ۷۰۰ نانومتر) روی فعالیت رنگیزه‌های فتوسنتزی و صفات بیوشیمیایی گیاه خرفه در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار بررسی شد. گیاهان به مدت یک هفته، به صورت یک روز در میان و هر بار به مدت ۳ دقیقه توسط دو لامپ فلورسانس با طول موج ۲۶۰ نانومتر در معرض تابش فرابنفش C (در فاصله‌ی ۳۰ سانتی‌متر از منبع نور UV با شدت ۲۷ (وات بر متر مربع) قرار گرفتند. صفات مورد مطالعه در این پژوهش شامل کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کاروتنوئید، فنل، فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بود. نتایج مقایسه میانگین نشان داد که تیمار اشعه ماورا بنفش کلروفیل a، b، کلروفیل کل، کاروتنوئید گیاه خرفه نسبت به شاهدکاهش یافت؛ اما تیمار اشعه ماورا بنفش گیاه خرفه باعث افزایش معنی‌دار فنل، فلاونوئید و آنتی‌اکسیدان نسبت به شاهد شد. تاثیر دوزهای مختلف اشعه ماورا بنفش بر فنل و آنتی‌اکسیدان گیاه خرفه نشان داد که بیشترین و کمترین UV-C به‌ترتیب در ۷۰۰ و ۱۰۰ نانومتر بود. به طور خلاصه، اعمال تنش نوری فرابنفش به صورت کنترل شده می‌تواند یک استراتژی جایگزین جدید برای افزایش بهره‌وری گیاه دارویی خرفه ارائه دهد. تعدیل نور UV-C در سیستم‌های کشاورزی ابزاری امیدوارکننده برای افزایش تولید محصولات است.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، عصاره، فلاونوئید، فنل

مقدمه

گیاهان مجموعه‌ای از متابولیت‌های ثانویه را به عنوان بخشی از مکانیسم دفاعی کلی خود در پاسخ به استرس زیستی و غیرزیستی تولید، جمع‌آوری و از آن‌ها استفاده می‌کنند. بسیاری از این متابولیت‌ها به عنوان دارو برای سلامت انسان در سراسر جهان مورد استفاده قرار گرفته است. در سال‌های اخیر، افزایش تقاضا برای مقادیر بیشتری از متابولیت‌های ثانویه مانند فنل‌ها، آلکالوئیدها، روغن‌های اساسی، ترپنوئیدها و گلیکوزیدها وجود دارد. هنگامی که از نور ماورا بنفش (UV) در کشت سلول و کالوس استفاده می شود، این اجزا اغلب تولید می‌شوند. علاوه بر این، تاثیر آلودگی‌های جوی بر لایه ازن استراتوسفر منجر به افزایش تابش اشعه ماورا بنفش خورشید به سطح

۱- دانشجوی دکتری بیوفیزیک، گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۲- استادیار، گروه زیست‌شناسی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: s.hesamitakalloo@iauctb.ac.ir)
۳- استادیار، گروه زیست‌شناسی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران
۴- استادیار، مرکز تحقیقات پروتئومیکس، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۵- استاد گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

DOI: 10.22067/JHS.2021.71685.1077

زمین شده است که ممکن است اثرات منفی بر تولید محصولات کشاورزی و اکوسیستم‌های گیاهی طبیعی داشته باشد (Bhat *et al.*, 2007; Pourakbar and Abedzadeh, 2014; Stalikas, 2007). به طور تقریبی، ۹ درصد از طیف خورشید از اشعه ماورا بنفش تشکیل شده است که به سه دسته UV-A (320-400 nm)، UV-B (280-320 nm) و UV-C (200-280 nm) تقسیم می‌شوند. افزایش اشعه ماورا بنفش، از جمله تخریب DNA، پروتئین و چربی و تغییرات ساختاری، همچنین تغییرات بر مورفولوژی و تغییرات فتوسنتزی در گیاه تأثیرات مستقیم و غیرمستقیم بر گیاهان دارد (Bhat *et al.*, 2007). در گیاهان، تغییرات بین و درون گونه‌ای قابل توجهی در پاسخ به تابش UV-B از نظر رشد، تولید ماده خشک و تغییرات متابولیک ثبت شده است (Alexieva *et al.*, 2001). نگرانی‌هایی در مورد افزایش اشعه ماورا بنفش (UV-B) خورشیدی (۲۸۰–۳۲۰ نانومتر) به سطح زمین در اثر تخریب ازن رسیده است که ممکن است به حیوانات و گیاهان آسیب برساند. رشد و نمو گیاه، و همچنین تولید مثل، می‌تواند تحت تأثیر افزایش تابش اشعه ماورا بنفش (Singleton and Rossi, 1965) قرار گیرد، که عواقب شدیدی بر عملکرد گیاه و اقتصاد آن دارد. تنش اشعه ماورا بنفش تأثیر عمده‌ای روی سیستم‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه دارد. درجه و مدت تنش اشعه ماورا بنفش تغییرات مورفولوژیک، ساختاری و عملکردی را تعیین می‌کند. قابلیت سازگاری گیاهان تحت تنش خفیف حفظ شده و تغییرات مشاهده شده برگشت‌پذیر است. مکانیسم‌های محافظتی گیاهان در برابر استرس UV-C می تواند شامل تشکیل ترکیبات فنلی در بافت های اپیدرم خارجی، تولید ترکیبات آنتی‌اکسیدان و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان برای ترمیم آسیب گیاهان توسط اشعه ماورا بنفش باشد. طول موج UV-C (بسیار پرانرژی) منجر به آسیب‌دیدگی خیلی سریع می‌شود. مکانیسم‌های جبرانی برای سرکوب رادیکال های آزاد تولید شده توسط اشعه ماورا بنفش بذرها شامل آنتی‌اکسیدان‌ها و پراکسیداز است (Publishing *et al.*, 2005). خرفه (*Portulaca oleracea*) به عنوان یک گیاه خوراکی به لحاظ تغذیه‌ای و دارویی با اهمیت است. این گیاه دارویی که معمولا به صورت خودرو در باغچه منازل، کنار جوی‌ها و در مناطق مرطوب می‌روید، شاید زیاد مورد توجه نباشد، اما کشف‌های مهمی در مورد آن انجام شده که توسط سازمان بهداشت جهانی لقب اکسیر جهانی به آن داده شده است. این گیاه به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی و مقدار بالای مواد مغذی آن از سوی این سازمان متداول‌ترین گیاه دارویی مورد استفاده در جهان ذکر شده است (Bahat *et al.*, 2007). پژوهش حاضر با هدف بررسی تاثیر اشعه ماورا بنفش و مطالعه اثرات احتمالی آن‌ها بر صفات بر رنگیزه‌های فتوسنتزی و پارامترهای بیوشیمیایی گیاه خرفه (*Portulaca oleracea*) انجام شده است.

مواد و روش‌ها

بذرهای گیاه خرفه از شرکت پاکان اصفهان تهیه گردید. پس از انتقال بذرهای گیاه خرفه، بذرهای سالم و یکنواخت این گیاه به مدت ۱۵۴ دقیقه در محلول ۱۰ درصد هیپوکلریدسدیم استریل شده و سپس با آب مقطر کاملاً شسته شدند. رطوبت از طریق کاغذ صافی‌های خیس شده توسط آب مقطر تامین شد. بذرها در گلدان‌هایی که درون آن‌ها با کوکوپیت و پرلیت به نسبت مساوی پر شده بود کشت داده شده و به مدت ۲۰ روز توسط محلول هوگلند نیم قدرت، آبیاری شدند. طی بیست روز گیاهان در دمای ۲±۳۰ درجه سانتی‌گراد و دوره نوری ۸/۱۶ (به ترتیب نور/ تاریکی) کشت داده شدند. سپس گیاهان به مدت یک هفته، به صورت یک روز در میان و هر بار به مدت ۳ دقیقه توسط دو لامپ فلورسانس با طول موج ۲۶۰ نانومتر در معرض تابش فرابنفش C (در فاصله‌ی ۳۰ سانتی‌متر از منبع نور UV با شدت ۲۷ (وات بر متر مربع) با سطوح تیماری (صفر، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰، ۵۰۰، ۶۰۰ و ۷۰۰ نانومتر) قرار گرفتند. هر گلدان در حکم یک تکرار منظور شده و از هر تیمار ۵ تکرار صورت گرفت. تیمارهای انجام شده در این مطالعه عبارتند از: الف) گیاهان شاهد، ب) گیاهان در معرض تابش فرابنفش C .

تعیین غلظت کلروفیل a و b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها در برگ‌های گیاه با استفاده از روش (Lichthentaler, 1987) انجام شد. مطابق این روش ۰/۱ گرم از بافت تر برگ وزن شده و با استون ۸۰ درصد سائیده و رنگیزه‌ها استخراج شد، پس از صاف کردن نمونه‌ها با کاغذ صافی واتمن جذب درطول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۷ و ۴۷۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر خوانده شد و مقدار کلروفیل a، b، کلروفیل کل و مقدار کاروتنوئید با استفاده از فرمول‌های زیر بر حسب میلی‌گرم در لیتر محاسبه شد.که در آن A جذب خوانده شده در طول موج مورد نظر برحسب میلی‌گرم در لیتر غلظت کاروتنوئیدها (کاروتن و گزانتوفیل) و کلروفیل a و b است.

$$C_a = 12.25\,A663.2 - 2.79\,A646.8$$
$$C_b = 21.50\,A646.8 - 5.1\,A663.2$$
$$C+ = C_a + C_b$$
$$C_x + C = (1000\,A470 - 1.82\,C_a - 8.02\,C_b)/198$$

برای سنجش فنل کل، ۰/۰۲ گرم گالیک اسید خشک برای نمونه شاهد مثبت را در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل کرده، سپس مقادیر ۸۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰ و ۵۰۰ میکرولیتر از محلول برداشته با آب مقطر به حجم یک میلی لیتر رسید. سپس یک میلی لیتر معرف فولین ۱۰ درصد و یک میلی‌لیتر کربنات سدیم هفت درصد به آن اضافه و محلول ها برای مدت زمان ۳۰ دقیقه تکان داده شد. نهایتاً جذب محلول‌های شاهد در طول موج ۷۶۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شدند (Salama *et al.*, 2011).

میزان فلاونوئید به روش رنگ سنجی کلرید آلومینیوم و برحسب

استاندارد روتین اندازه‌گیری شد. ابتدا ۰/۰۱گرم از عصاره در ۱۰میلی‌لیتر متانول۶۰ درصد در لوله آزمایش مخلوط شده بدین ترتیب محلول استوک (مادر) تهیه شد. سپس حجم‌های ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر از محلول برداشته و یک میلی‌لیتر از محلول کلرید آلومنیوم دو درصد به آن اضافه گردید. سپس شش میلی‌لیتر از محلول استات پتاسیم ۵ درصد به آن افزوده شده و به مدت ۴۰ دقیقه روی شیکر قرار داده و نهایتاً جذب محلول‌های در طول موج ۴۱۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. نمونه بلانک در این آزمایش دو میلی‌لیتر کلرید آلومینیوم دو درصد و دو میلی‌لیتر محلول استات پتاسیم ۵ درصد می‌باشد. مقدار کل فلاونوئید عصاره‌ها با استفاده از منحنی استاندارد روتین محاسبه شد (Krizek *et al.*, 1998).

جهت تهیه عصاره متانولی یک گرم پودر گیاه را وزن کرده و درون یک ارلن ۲۰۰ میلی‌لیتری ریخته و با ۱۵ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد مخلوط و روی شیکر قرار داده شد. پس از گذشت ۴۸ ساعت، محلول از کاغذ صافی عبور داده شد و در دمای محیط خشک گردید. عصاره حاصل درون فویل آلومینیومی پیچیده شد و درون یخچال تا زمان استفاده نگه‌داری شد (Chen *et al.*, 2014).

اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره با استفاده از روش اندازه‌گیری کاهش ظرفیت رادیکالی به کمک ۲،۲- دی فنیل-۱ پیکریل هیدرازیل مورد ارزیابی قرار گرفت. در این آزمایش به عنوان کنترل مثبت از آنتی اکسیدان سنتزی اسید آسکوربیک استفاده شد. برای این منظور مقدار ۰/۰۲ گرم اسید آسکوربیک در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد. بدین ترتیب محلول مادر تهیه شد، برای رسم منحنی کالیبراسیون مقادیر حجم ۸۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰ و ۵۰۰ میکرولیتر از محلول مذکور برداشته مخلوط شد و با سه میلی‌لیتر سمپل بلانک که از قبل تهیه شده (۰/۰۰۴ گرم DPPH در ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول) و برای مدت زمان ۳۰ دقیقه در تاریکی تکان داده شد. جذب محلول‌های شاهد بعد از این مدت زمان در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده شد. برای محاسبه ظرفیت آنتی اکسیدان از رابطه زیر استفاده و نتیجه بر حسب درصد گزارش گردید (Mahdavian *et al.*, 2008).

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (%) = [(AC-AS) /AC] ×100

AC=جذب کنترل

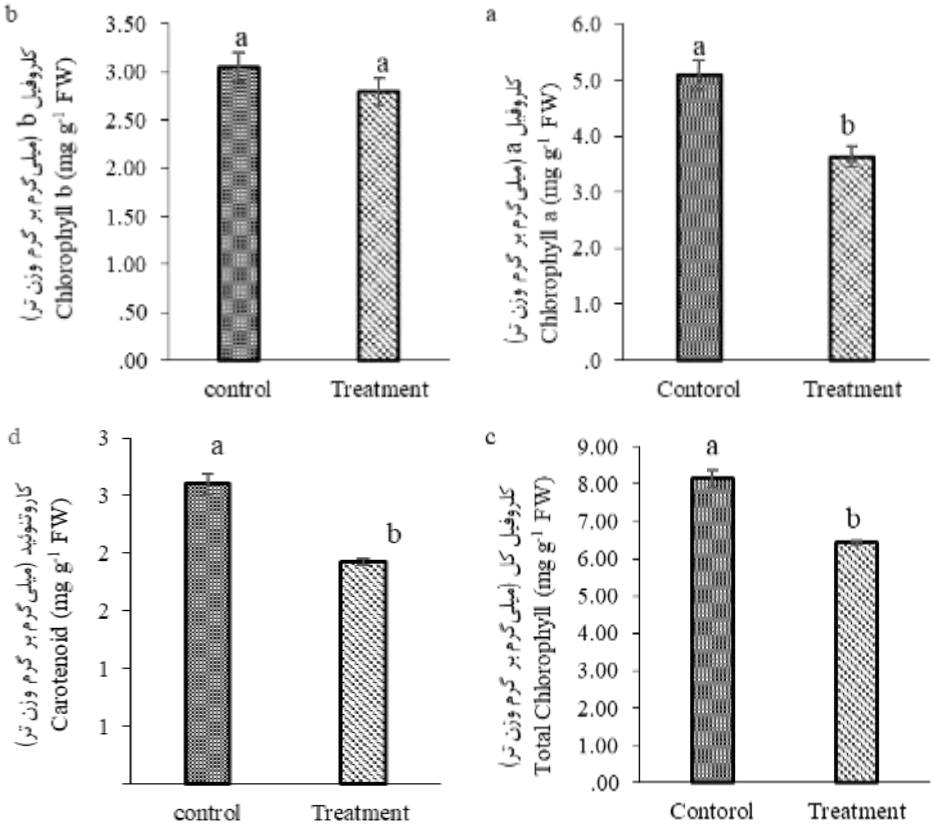
AS = جذب نمونه

آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم افزار SAS (V 9.4) و مقایسه میانگین‌ها باآزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاروتنوئید

با بررسی نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، تیمار ماورا بنفش (UV) به ترتیب به میزان ۲۸/۶۹، ۸/۵۰، ۲۱/۱۲ و ۲۵/۷۵ درصد کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاروتنوئید گیاه خرفه نسبت به شاهد کاهش یافت (شکل ۱). می‌توان گفت قرارگیری بیش از حد در برابر اشعه ممکن است از طریق مهار بیوسنتز کلروفیل یا تسریع در تخریب آن، بر میزان کلروفیل تأثیر بگذارد (Zho *et al.*, 2007). این نتایج همسو با پژوهش (Salama *et al.*, 2011) روی تأثیر اشعه ماورا بنفش در گیاهان بیابانی سالاته مشاهده شد که میزان کلروفیل a، b، و محتوای کل در مقایسه با کنترل کاهش یافته است. در مطالعه (Sarghein *et al.*, 2008) بر تأثیر اشعه ماورابنفش بر رنگدانه‌های فتوسنتزی و ترکیبات جاذب UV در *Capsicum longum* L. نشان داد که محتوای کلروفیل a و b در گیاهان در معرض UV-R کمی کاهش می‌یابد و اگرچه این کاهش معنی‌دار نیست، مقدار کلروفیل کل (Chl-T) به ویژه در معرض UV-C به طور قابل توجهی کاهش می‌یابد غلظت کاروتنوئیدها در گیاهان نیز در گیاهان در معرض اشعه ماورابنفش کاهش می‌یابد. در مطالعه (Jahanbakhsh *et al.*, 2011) دانه و صفات کیفی ذرت شیرین (*Zea mays* L.var. Sacarata) تحت تیمارهای کم آبی، تشعشع فرابنفش و ازدیاد دی اکسید کربن را بررسی کردند و نتیجه گرفتند که مقدار پرولین، کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها و فلاونوئیدها تحت تاثیر UV-C کاهش یافت. در پژوهش (Casati *et al.*, 2002) گزارش کردند که کلروفیل کل (به دلیل کاهش کلروفیل a وb) کاروتنوئید، پروتئین‌های محلول، قندهای محلول، نشاسته و ترکیبات جذب کننده‌ی تابش فرابنفش در گیاهان رشد یافته تحت تاثیر UV-C کاهش یافت. در گزارش (Mahdavian *et al.*, 2008) تأثیر اشعه ماورا بنفش بر روی محتوای کلروفیل، فلاونوئید، آنتوسیانین و پرولین در *Capsicum annuum* L. را بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که محتوای کلروفیل a، b و کاروتنوئیدهای برگ فلفل در گیاهانی که در معرض اشعه UV-B و UV-C قرار داشتند به طور قابل توجهی کاهش یافت. در تحقیق (Costa *et al.*, 2006) گلدان‌های کلم بروکلی را تحت تیمار با اشعه ماورابنفش، قرار دادند و نتیجه گرفتند که کلروفیل‌های a، b و کلروفیل کل بخصوص در UV-C کاهش می یابد. در پژوهشی (Khalili *et al.*, 2019) تغییرات رنگیزه‌ها و متابولیت‌های ثانویه گیاهچه درمنه کوهی در پاسخ به پرتوهای UV و زمان نمونه گیری در شرایط آزمایشگاهی بررسی شد و به این نتیجه رسیدند که کلروفیل‌های a، b و کلروفیل کل در تمام تابش‌ها به غیر از UV-A کاهش یافت و بیشترین کاهش در تابش (UVB+C) گزارش کردند.



شکل ۱- تاثیر اشعه ماورابنفش (UV-C) بر میزان a) کلروفیل a، b) کلروفیل b، c) کلروفیل کل و d) کاروتنوئید گیاه خرفه (*Portulaca oleracea*)

Figure 1- The effect of ultraviolet (UV-C) radiation on the amount of a) chlorophyll a, b) chlorophyll b, c) total chlorophyll, and d) carotenoid of *Portulaca oleracea*

(DMRT, $p \leq 0.05$)

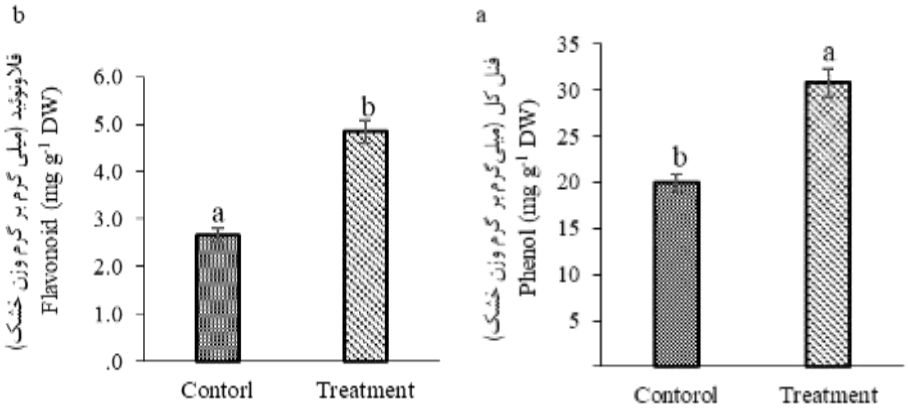
میزان فنل و فلاونوئید

نتایج گویای آن بود که تیمار ماورابنفش به ترتیب به میزان ۵۴/۴۵ و ۸۱/۸۷ افزایش فنل و فلاونوئید نسبت به شاهد را نشان داد (شکل ۲). مقایسه میانگین تیمارهای مختلف اشعه ماورا بنفش بر میزان فنل نشان داد که به ترتیب بیشترین و کمترین میزان به تیمار ۷۰۰ و ۱۰۰ UV-C تعلق دارد (شکل ۳). اکسیژن گیرنده الکترون در سیستم انتقال الکترون است که از آدنوزین‌تری فسفات (ATP) در بدن انرژی تولید می کند. تحت شرایط خاص، اکسیژن ممکن است به یک الکترون منفرد تبدیل شود و رادیکال‌های آزاد، ایجاد کند. وقتی اکسیژن به یک الکترون منفرد تبدیل می‌شود، اکسیژن فعال (ROS) نامیده می‌شود. این رادیکال های آزاد باعث ایجاد تنش اکسیداتیو در گیاهان می‌شود که تنش اکسیداتیو منجر به آسیب‌های بر روی ماکرومولکول‌ها مانند DNA، پروتئین‌ها و غیره می‌گردد (Pietta, 2000). یکی از این ترکیبات که از تولید گونه‌های اکسیژن فعال جلوگیری و جاروب می‌کند ترکیبات فنلی است. در گیاهان این ترکیبات طی دو مسیر بیوسنتزی که مسیر اول شیکیمیک اسید و مسیر دوم موالونیک اسید تولید می‌شوند. در گیاهان بیش از ۱۱۰۰۰ ترکیب فنلی شناسایی شده است که از فنل ساده تا فنل‌ها پیچیده تشکیل شده‌اند (Bravo, 1998). ترکیبات فنلی با توجه به ساختار آگلیکون‌ها به دو گروه تقسیم بندی می‌شوند. گروه اول این ترکیبات در ساختارشان مشتقات بنزوئیک اسید وجود دارد که به عنوان ترکیبات اسیدهای فنلی شناخته شده است و گروه دوم در ساختارشان ترکیبات فنیل پروپانوئید وجود دارد که شامل فلاونوئیدها و هیدروکسی سینامیک اسیدها هستند (0Mandal *et al.*, 201). ترکیبات فنلی در بسیاری فرآیندهای فیزیولوژیکی و ریخت شناسی (رنگ)، رشد (جذب مواد تغذیه ای)، تولید مثل (جذب پرندگان و حشرات برای گرده افشانی) و حفاظت در برابر پاتوژن‌ها و عوامل تنش‌زا مانند پرتو UV نقش مهمی را ایفا می‌کند (Stalikas, 2007). فلاونوئیدها بزرگترین گروه متابولیت های ثانویه و مهم‌ترین گروه از آنتی‌اکسیدان های طبیعی هستند. آن‌ها از نظر ساختار شیمیایی، دارای

یک ساختمان سه حلقه‌ای فنیل بنزوپیران (به جز چالکون)، از نظر بیوسنتزی، ازفنیل آلانین و مالونیل کوآ طی مسیر فنیل پروپانوئید ایجاد می‌گردند. فلاونوئیدها، به عنوان رنگدانه‌های گیاهی، معمولاً رنگ‌های جالبی را در گلبرگ‌ها تولید می‌کنند وقتی تحت پرتو بنفش تحریک می‌شوند، بسیار فلورسنت می‌شوند. فلاونوئیدها شامل فلاونول‌ها، فلاون، ایزوفلاونوئید و آنتوسیانین می‌باشند (Agati *et al.*, 2012). ترکیبات فلاونوئیدی یا مشتقات هیدروکسی اسید سینامیک ترکیباتی هستند که پرتوهای UV را جذب می‌کنند و در اپیدرم و یا در واکوئل سلول‌ها قرار می‌گیرند و از نفوذ پرتوهای UV و آسیب این پرتوها به بافت‌های فتوسنتزی جلوگیری می‌کند (Agati *et al.*, 2012). نتایج این تحقیق نشان داد که مقدار ترکیبات فنل تفاوت معنی داری را در برگ گیاه خرفه تحت اشعه فرابنفش C داشته است. نتایج این پژوهش نشان داد فلاونوئید در گیاه خرفه تحت تیمار با اشعه نسبت به شاهد افزایش یافته است. در بررسی اثر زمان تابش UV-C بر روی میزان فنل کل و فلاونوئید در برگ *clerodendrum volubile* نشان داد که محتوای فنلی کل و فلاونوئید با افزایش زمان تابش UV-C افزایش می‌یابد (Adetuyi *et al.*, 2020). گزارشات متعدد شده است که تاثیر اشعه UV-C بر روی میوه بلوبری (*Vaccinium corymbosum*)، سرکلم بروکلی (*Brassica oleracea*) و میوه گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum*) باعث افزایش محتویات فنلی در آن‌ها شده است (Costa *et al.*, 2006; Perkins-Veazie *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2017). که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. افزایش در محتوای فنلی برگ‌های گیاه خرفه را می توان به علت افزایش فعالیت فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) و کالکون سنتاز نسبت داد. که مسئول بیوسنتز ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در بافتهای گیاه توسط اشعه UV-C است (Papoutsis *et al.*, 2016). بررسی‌های (Alothman *et al.*, 2009) افزایش ترکیبات فنلی و فلاونوئید در میوه‌های آناناس، موز و گواوا مشاهده کردند. در تحقیقاتی کاربرد اشعه ماورا بنفش C روی گوجه‌فرنگی افزایش محتوای فنلی کل را در مقایسه با شاهد نشان داد. افزایش محتوای فنل کل پس از تیمارهای UV-C را می توان مکانیسم سازگاری گوجه‌فرنگی به دلیل استرس UV دانست (Pinheiro *et al.*, 2015). در بررسی (Bhat *et al.*, 2007) بیان کردند که افزایش ترکیبات فنلی نیز می تواند به دلیل دپلیمریزاسیون و انحلال دیواره سلول پلی‌ساکاریدها گیاهان توسط اشعه ماورا بنفش C که باعث قابلیت استخراج فنل‌ها را افزایش دهد. در پژوهش (Balouchi *et al.*, 2008) نتیجه گرفتند که با کاهش طول موج تابش فرابنفش مقدار رنگدانه‌های آنتوسیانین و فلاونوئید گندم افزایش می‌یابد.

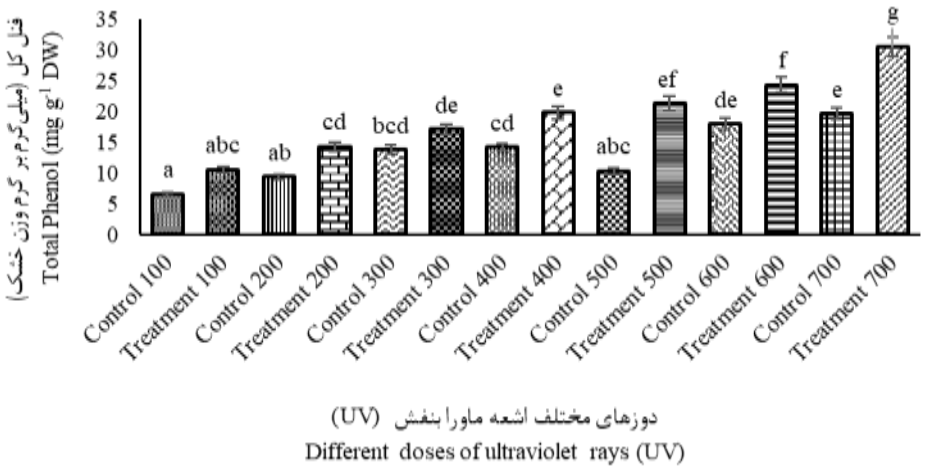
میزان آنتی‌اکسیدان

نتایج مقایسه میانگین نشان داد که تیمار ماورابنفش بر میزان آنتی‌اکسیدان ۱۷/۳۷ درصد نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داد (شکل ۴). مقایسه میانگین میزان آنتی‌اکسیدان نشان داد که به ترتیب بیشترین و کمترین میزان در تیمار ۷۰۰ و ۱۰۰ UV-C مشاهده شد (شکل ۵). تنش‌های محیطی از جمله پرتو UV باعث تولید اکسیژن ها فعال (ROS) از جمله پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، سوپراکسید (O_2^-) و رادیکال های هیدروکسیل (OH) شده است که سبب ایجاد تنش اکسیداتیو ایجاد می‌کند و برای ترکیبات سلولی مانند DNA، پروتئین‌ها مضرند و باعث تخریب این ترکیبات می‌شوند. در گیاه ترکیباتی وجود دارد که به عنوان آنتی اکسیدانی فعال عمل می‌کند و اکسیژن‌های فعال را جاروب می‌کنند (Zhang and Björn, 2009). در نتایج پور اکبر و عابدزاده (Pourakbar and Abedzadeh, 2014) نشان داده شد که اثر پرتوهای فرابنفش UV-B و UV-C بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاه بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) افزایش معنی‌داری را نسبت به شاهد نشان داد.



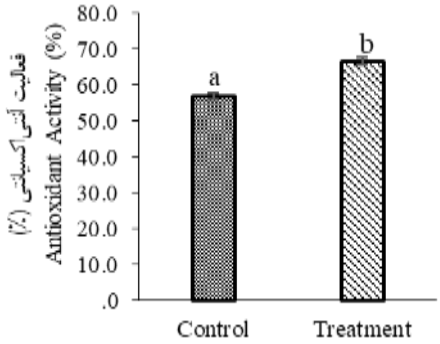
شکل ۲- تاثیر اشعه ماورابنفش (UV-C) بر میزان a) فنل و b) فلاونوئید گیاه خرفه (*Portulaca oleracea*)

Figure 2- The effect of ultraviolet (UV-C) radiation on the amount of a) phenol and b) flavonoid of *portulaca oleracea* (DMRT, $p \leq 0.05$)



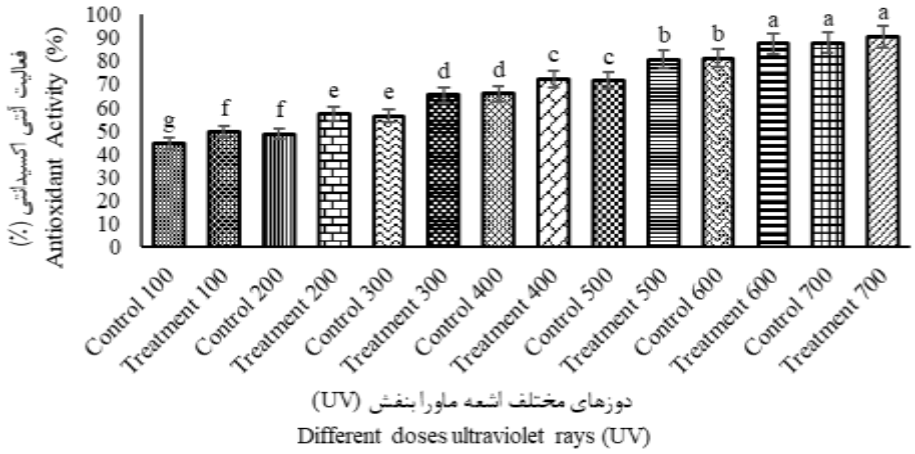
شکل ۳- تاثیر سطوح مختلف اشعه ماورابنفش (UV-C) بر میزان فنل گیاه خرفه (*Portulaca oleracea*)

Figure 3- The effect of different doses of ultraviolet (UV-C) radiation on the phenol content of *portulaca oleracea* (DMRT, $p \leq 0.05$)



شکل ۴- تاثیر اشعه ماورابنفش (UV-C) بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه خرفه (*Portulaca oleracea*)

Figure 4- The effect of ultraviolet (UV-C) radiation on the antioxidant activity of *Portulaca oleracea* (DMRT, $p \leq 0.05$)



شکل ۵- تاثیر سطوح مختلف اشعه ماورابنفش (UV-C) بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه خرفه (*Portulaca oleracea*)

Figure 5- The effect of different levels of ultraviolet (UV-C) radiation on the antioxidant activity of *Portulaca oleracea* (DMRT, $p \leq 0.05$)

نتیجه‌گیری

با توجه به ارزش دارویی و غذایی گیاه خرفه و همچنین اثرات سو مصرف کودهای شیمیایی در بخش کشاورزی، انجام تحقیقات گسترده در افزایش عملکرد و بهبود کیفیت گیاهان دارویی و کاربرد اشعه ماورا بنفش به عنوان محرک رشد جهت افزایش متابولیت‌های ثانویه در این گیاه امری ضروری است. با توجه به خواص دارویی و آنتی‌اکسیدانی ترکیب‌های فنولی و فلاونوئیدی خرفه در سلامتی انسان و همچنین، با توجه به نقش دفاعی این ترکیب ها در برابر پرتو فرابنفش برای گیاهان ایفا می‌نمایند، می‌توان به طور موثر از پرتوهای UV برای افزایش ترکیب‌های مفید در گیاهان بهره برد

منابع

1. Adetuyi F.O., Karigidi K.O., and Akintimehin E.S. 2020. Effect of postharvest UV-C treatments on the bioactive components, antioxidant and inhibitory properties of clerodendrum volubile leaves. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences 119(1): 7-13. DOI: 10.1016/j.jssas.2018.03.005.
2. Agati G., Azzarello E., Pollastri S., and Tattini M. 2012. Flavonoids as antioxidants in plants: location and functional significance. Plant Science 196: 67-76. DOI: 10.1016/j.plantsci.2012.07.014.
3. Alexieva V., Sergiev I., Mapelli S., and Karanov E. 2001. 'The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat'. Plant, Cell & Environment 24(12): 1337-1344. DOI:10.1046/j.1365-3040.2001. 00778. x.
4. Alothman M., Bhat R., and Karim A.A. 2009. UV radiation-induced changes of antioxidant capacity of fresh-cut tropical fruits. Innovative Food Science & Emerging Technologies 10(4):512-6. DOI: 10.1016/j.ifset.2009.03.004.
5. Balouchi H.R., Modarres Sanavy S.A.M., Emam Y., and BarzeGar M.O.H.S.E.N. 2008. Effect of Water Deficit, Ultraviolet Radiation and Carbon Dioxide Enrichment on Leaf Qualitative Characters of Durum Wheat (*Triticum turgidum* L.). Isfahan University of Technology-Journal of Crop Production and Processing 12(45): 167-181. DOI: 20.1001.1.24763594.1387.12.45.15.2.
6. Bhat R, Sridhar K.R., and Tomita-Yokotani K. 2007. Effect of ionizing radiation on antinutritional features of velvet bean seeds (*Mucuna pruriens*). Food Chemistry 103: 860–866. DOI:10.1016/j.foodchem.2006.09.037.
7. Booij-James I.S., Dube S.K., Jansen M.A., Edelman M., and Mattoo A.K. 2000. 'Ultraviolet B radiation impacts light-mediated turnover of the photosystem II reaction center heterodimer in *Arabidopsis* mutants altered in phenolic metabolism'. Plant Physiology 124(3): 1275-1284. DOI:10.1104/pp.124.3.1275.
8. Bravo L. 1998. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. Nutrition Reviews 56(11): 317-33. DOI: 10.1111/j.1753-4887. 1998.tb01670.x.
9. Casati P., Lara M.V., and Andreo C.S. 2002. Regulation of enzymes involved in C 4 photosynthesis and the antioxidant metabolism by UV-B radiation in Egeria densa, a submersed aquatic species. Photosynthesis Research 71(3): 251-64. DOI:10.1023/A:1015543208552.
10. Chen J., Xiao Q., Wang C., Wang W.H., Wu F.H., He B.Y., Zhu Z, Ru Q.M., Zhang L.L., and Zheng H.L. 2014. Nitric oxide alleviates oxidative stress caused by salt in leaves of a mangrove species, Aegiceras corniculatum. Aquatic Botany 117: 41-47. DOI: 10.1016/j.aquabot.2014.04.004.
11. Costa L., Vicente A.R., Civello P.M., Chaves A.R., and Martínez G.A. 2006. UV-C treatment delays postharvest senescence in broccoli florets. Postharvest Biology and Technology 39(2): 204-210. DOI:10.1016/j.postharvbio.2005.10.012.
12. Hollosy F. 2002. Effects of ultraviolet radiation on plant cells. Micron 33: 179-197. DOI:10.1016/S0968-4328(01)00011-7.
13. Jahanbakhsh H., Secondary teacher S., A., M. Qanati F., Tavakoli M., and Panahi A. 2014. Evaluation of grain yield and quality traits of sweet corn (*Zea mays* L. var. Sacarata) under treatments of dehydration, ultraviolet radiation and carbon dioxide increase. Iranian Crop Science 45 (3): 355-344. DOI:10.22059/ijfcs.2014.53530.
14. Khalili M., Razavizadeh R., and Forghani A. 2019. Changes in pigments and secondary metabolites ofArtichoke seedlings in response to UV rays and sampling time in vitro. Plant Biology of Iran (2) 11: 22. DOI: 10.22108/ijpb.2019.116190.1146.
15. Krizek D.T., Britz S.J., and Mirecki R.M. 1998. Inhibitory effects of ambient levels of solar UV-A and UV-B radiation on growth of cv. New Red Fire lettuce. Physiologia Plantarum 103: 1-7. DOI:10.1034/j.1399-3054.1998. 1030101.x.
16. Li P., Yu X., and Xu B. 2017. Effects of UV-C light exposure and refrigeration on phenolic and antioxidant profiles of subtropical fruits (Litchi, Longan, and Rambutan) in different fruit forms. Journal of Food Quality DOI: 10.1155/2017/8785121.
17. Lichthentaler H. 1987. Chlorophyll and carotenoids-pigments of photosynthetic biomembranes. In: Methods in

Enzymology (eds. Colowick, S. P. and Kaplan, N. O.) Academic Press, Sandiego, New York. DOI: 10.1016/0076-6879(87)48036-1.
18. Mahdavian K., Ghorbanli M., and Kalantari K.M. 2008. The effects of ultraviolet radiation on the contents of chlorophyll, flavonoid, anthocyanin and proline in *Capsicum annuum* L. Turkish Journal of Botany 32(1): 25-33.
19. Mandal S.M., Chakraborty D., and Dey S. 2010. Phenolic acids act as signaling molecules in plant-microbe symbioses. Plant Signaling & Behavior 5(4): 359-68. DOI:10.4161%2Fpsb.5.4.10871.
20. Nanjo F., Goto K., Seto R., Suzuki M., Sakai M., and Hara Y. 1996. Scavenging effects of tea catechins and their derivatives on 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. Free Radical Biology and Medicine 21(6): 895-902. DOI: 10.1016/0891-5849(96)00237-7.
21. Papoutsis K., Quan V., Pristijono V.P., Golding J.B., Bowyer M.C., Scarlett C.J., and Stathopoulos C.E. 2016. Enhancing the total phenolic content and antioxidantsof lemon pomace aqueous extracts by applying uv-c irradiation to the dried powder. Foods 5(55): 1–10. DOI: 10.3390/foods5030055.
22. Perkins-Veazie P., Collins J.K., and Howard L. 2008. Blueberry fruit response to postharvest application of ultraviolet radiation. Posth. Biology Technology 47(3): 280–285. DOI:10.1016%2Fj.postharvbio.2007.08.002.
23. Pietta P.G. 2000. Flavonoids as antioxidants. Journal Natural Production 63(7): 1035-42. DOI: 10.1021/np9904509.
24. Pinheiro J., Alegria C., Abreu M., Goncalves E.M., and Silva C.L.M. 2015. Use of UV-C postharvest treatment for extend1ing fresh whole tomato (*Solanum lycopersicum*, cv. Zinac) shelf-life. Journal Food Science Technology 52(8): 5066–5074. DOI: 10.1007%2Fs13197-014-1550-0.
25. Pourakbar L., and Abedzadeh M. 2014. The effect of UVB-C and UV-C rays on the activity of antioxidant enzymes in Lemongrass (*Melissa officinalis* L.) and the effect of salicylic acid in reducing the stress caused by ultraviolet rays. Iranian Journal of Plant Biology 21: 23-34. DOI:20.1001.1.20088264.1393.6.21.4.9.
26. Publishing Sh., Turkzadeh M., Manouchehri Kalantari Kh., and Ghorbanli M.L. 2005. Effect of different UV bands on pigments in soybean leaf (*Glycine max* L.). Biology of Iran 18(1): 77-84.
27. Razavizadeh R., and Komatsu S. 2018. 'Changes in essential oil and physiological parameters of callus and seedlings of *Carum copticum* L. under in vitro drought stress'. Journal of Food Measurement and Characterization 12(3): 1581-1592. DOI: 10.1007%2Fs11694-018-9773-9.
28. Rogozhin V.V., Kuriliuk T.T., and Filippova N.P. 2000. Change in the reaction of the antioxidant system of wheat sprouts after UV-irradiation of seeds. Biofizika 45: 730-736.
29. Salama H.M., Al Watban A.A., and Al-Fughom A.T. 2011. Effect of ultraviolet radiation on chlorophyll, carotenoid, protein and proline contents of some annual desert plants. Saudi Journal of Biological Sciences 18(1): 79-86. DOI: 10.1016/j.sjbs.2010.10.002.
30. Sarghein S.H., Carapetian J., and Khara J. 2008. Effects of UV-radiation on photosynthetic pigments and UV absorbing compounds in *Capsicum longum* (L.). International Journal of Botany DOI:10.3923/ijb.2008.486.490.
31. Singleton, V.L. and Rossi, J.A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture 16: 144-158.
32. Stalikas C.D. 2007. Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. Journal of Separation Science 30(18):3268-95. DOI: 10.1002/jssc.200700261.
33. Teramura A.H., and Sullivan J.H. 1994. Effects of terrestrial plants. Photosynthesis Research 39: 463-473. DOI:10.1007/BF00014599.
34. Zhang W.J., and Björn L.O. 2009. 'The effect of ultraviolet radiation on the accumulation of medicinal compounds in plants'. Fitoterapia 80(4): 207-218. DOI: 10.1016/j.fitote.2009.02.006.
35. Zhao G.Q., Ma B.L., and Ren C.Z. 2007. Growth, gas exchange, chlorophyll fluorescence, and ion content of naked oat in response to salinity. Crop Science 47(1): 123-131. DOI:10.2135/cropsci2006.06.0371.

Contents

Study on Storability of Afghan Local Onions (*Allium cepa* L.) at Two Thermal Conditions 1
S.A. Yaqoobi, H. Nemati, M. Azizi, M. Shoor
Evaluation of the Replacement Ability and Comparison the Growth and Quality Characteristics of Clover Lawn with Common Grass Lawn in Landscape to Reduce the Mowing Costs 15
E. Saeedipooya, A. Tehranifar, Gh.A. Gazanchian, F. Kazemi, M. Shoor
Investigation of Morpho-Physiological Properties of Peppermint (*Mentha piperita* L.) Affected by Carbon Sources of Ethanol and Methanol 29
V. Akbarpour, M. Motaharinezhad, M.A. Bahmanyar
The Effect of Vitamin C and B Treatments on Button Mushroom Yield and Postharvest Life 43
S. Khosravi, M. Haghighi, M. Mehnatkesh
Effect of Hormonal Combination of Auxin and Cytokinin on Micropropagation of Eastern Lily (*Lilium* oriental hybrid 'Casablanca') Plant Using Bulb Scale Explant 57
N. Javaheri, B. Kaviani
The Role of Melatonin on Postharvest Properties of Sweet Cherry Fruit cv. Siah Mashhad during Storage 71
B. Ghorbani, R. Najafzadeh
Evaluation of Phonological, Morphological, and Pomological Characteristics of Some Nectarine Cultivars and Genotypes under Khorasan Razavi Province Climatic Conditions 87
A. Ghahramani - E. Ganji-Moghadam - A. Marjani
Effect of Water Stress on some Morphological and Physiological Characteristics of *Citrus* Natural Genotypes Seedling 103
R. Fifaei, H. Taheri, Y. Tajvar, E. Gholamian
The Effect of Alcoholic Extract of Propolis and Hydro Cooling on Some Postharvest Characteristics of *Cucumis sativus* 117
V. Anisi, Y. Selahvarzi, M. Kamali, B. Abedi
Effect of Drought Stress on Physiological and Phytochemical Traits of *Silybum marianum* L. 135
R. Ghanbari Moheb Seraj, M. Behnamian, A. Ahmadikhah, V. Shariati, S. Dezhsetan
Evaluation of Diversity in some Phytochemical Characteristics and Antibacterial Effects of Extract of Iranian Cultivars of Chrysanthemum (*Dendranthema morifolium* Ramat.) 149
Sh. Taghipour, A. Ehtesham Nia, H. Khodayari, H. Mumivand
Effect of Gibberellic Acid and Putrescine on Growth, Flowering and Vase Life of Lily Cut Flower ('Lesotho') 163
M. Hojjatipour, M. Hassanpour Asil
Investigation of Genetic Diversity of Some Wild Barberry Genotypes (*Berberis* spp.) in Alborz and Tehran Provinces Using Morpho-pomological Markers 177
M. Pirkhezri
Effect of Putrescine and Nitric Oxide on Morphological, Biochemical and Postharvest Characteristics of Rose 'Avalanche' 193
R. Abdi- Z. Jabbarzadeh
Foliar Application of Nano Fe and Se Affected the Growth and Yield of *Pelargonium graveolens* under Salinity Stress 213
L. Vojodi Mehrabani, Y. Anvari Gheshlagh, A. Motallebi Azar
Sustainable Production of Quince by Using Fulvic Acid Bio Stimulant and Calcium 229
A.A. Shokouhian, S. Mohammadi Shevir, S. Einizadeh
Impact of Postharvest Application of Ascorbic Acid on Storage Life and Quality Attributes of Persimmon Fruit (*Diospyros kaki* Thunb) 241
F. Nasr, V. Rabiei, F. Razavi, G. Gohari
Canonical Correlation between Morphological and Phytochemical Characteristics of Five Varieties of *Phalaenopsis* Orchids 259
F. Bidarnamani, S.N. Mortazavi, Y. Shiri
Linear Modeling of the Impact of Pests and Diseases on the Growth Process of Strawberry Plants in the State Space 271
Z. Abbasi, I. Zamani, M. Shafieirad, A.H. Amiri Mehra, M. Hosseinifarahi
Effect of Application of Organic and Biological Fertilizers on Growth and Biochemical Characteristics of Fennel (*Foeniculum vulgar* Miller) under Greenhouse Conditions 285

S.A.H. Bahari Meymandi, Sh. Sharafzadeh, O. Alizadeh, F. Bazrafshan, B. Amiri
Effect of Gibberellic Acid and Different Spectra of LED Lights on Quality of *Cyclamen persicum* Mill. Seedlings 307
B. Gholamian Dehkordi, S. Reezi, M. Ghasemi Ghehsareh
The Effect of Ultraviolet (UV) Radiation on Photosynthetic Pigments and Biochemical Parameters of *Portulaca oleracea* 319
Z. Shahzeidi, S. Hesami Tackallou, L. Amjad, H. Zali, A. Iranbakhsh

HORTICULTURAL SCIENCES

(AGRICULTURAL SCIENCES AND TECHNOLOGY)

Vol. 36 No. 1 2022

Published by: College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.

Editor in charge: Valizadeh,R.(Ruminant Nutrition) Prof. Ferdowsi University of Mashhad.

General Chief Editor: Tehranifar,A. (Horticultural Sciences) Prof. Ferdowsi University of Mashhad.

Editorial Board:

Tehranifar,A.	Horticultural Sciences	Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
Arouiee, H.	Horticultural Sciences	Asso.Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
Khanizadeh,SH.	Research Scientist	Bioproducts and Bioprocesses, Agriculture and Agri-Food Canada.
Davarynejad, GH.	Horticultural Sciences	Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
Haghighi, M.	Horticultural Sciences	Asso. Prof. Isfahan University of Technology.
Tavakkol Afshari, R.	Seed Physiology	Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
Azizi, M.	Medicinal Plants	Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
Sharifani, M.M.	Horticultural Sciences	Asso.Prof. Gorgan University of Agricultural Science & Natural Resources.
Shoor, M.	Horticultural Sciences	Asso. Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
Ebadi,A.	Horticultural Sciences	Prof .Tehran University.
Fallahi,E.	Horticultural Sciences	Department of Plant Sciences, University of Idaho.
Farsi, M.	Plant Breeding and Genetics	Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
Kafi, M.	Floriculture and landscaping	Prof .Tehran University.
Lahouti, M.	Plant Physiology	Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
Zamani, Z.	Horticultural Sciences	Prof. University of Tehran, Iran

Publisher: Ferdowsi University of Mashhad.

Address: College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.

P.O.BOX: 91775- 1163

Tel: +98-0511- 38804621

Fax: +98-0511- 8787430

E-Mail: Jhorts4@um.ac.ir

Web Site: https://jhs.um.ac.ir