نشریه علمی
علـوم باغبـانی
(علوم و صنایع کشاورزی)

شاپا: ۴۷۳۰-۲۰۰۸

دانشگاه فردوسی مشهد

جلد ۳۷ شماره ۲
سال ۱۴۰۲

شماره پیاپی ۵۸

عنوان مقالات

خصوصیات بیوشیمیایی میوه دوازده ژنوتیپ بومی زرشک (*Berberis* spp.)........ ۲۹۵
احمد بالندری- مجید عزیزی- مهسا خدابنده
بررسی تاثیر کودهای آلی و شیمیایی بر کیفیت میوه کیوی رقم 'هایوارد' طی نگهداری در سردخانه........ ۳۰۹
معصومه کیااشکوریان- طاهره رئیسی- بیژن مرادی- جواد فتاحی مقدم- مازیار فقیه نصیری
تأثیر کاربرد برخی کودهای شیمیایی و آلی و تنش خشکی بر فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دسموتاز، پراکسیداز و پروتئین محلول کل در انگور رقم 'بیدانه قرمز'........ ۳۲۷
اکرم فاطمی- آسیه صفری- محسن سعیدی- زهرا کلاه چی
اثر جیبرلیک‌اسید و میدان مغناطیسی بر ماندگاری توت‌فرنگی رقم 'سلوا' در شرایط تنش دمایی........ ۳۳۹
محمدرضا زندی- عبدالحسین ابوطالبی جهرمی- بهنام بهروزنام- عبدالرسول ذاکرین
بررسی تاثیر محلول‌پاشی پرولین بر میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی و اسمولیت‌های پایه UCB1 پسته در شرایط تنش آبی........ ۳۵۳
مسعود فتاحی- عبدالرحمان محمدخانی
بررسی صفات زراعی، تولید محصول و شاخص‌های اقتصادی در کشت مخلوط اسفناج با نخود........ ۳۶۵
جواد حمزه‌ئی- مسعود خیشوند
بهبود فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه دارویی ریحان تحت تأثیر گونه‌های مختلف قارچ میکوریزا در شرایط تنش کم‌آبی........ ۳۷۹
مینا امانی- محسن سبزی نوجه‌ده- سعیده علیزاده سالطه- مهدی یونسی حمزه‌خانلو- بیوک آقا فرمانی- حسین هاتف هریس- شیوا محمدیان- سودا پیرطریقت
بررسی ویژگی‌های اکوفیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و علف‌کشی اسطوخودوس افراشته، سنا بومی، زامور و بادمجان وحشی........ ۳۹۳
حسین غلامی- محمدجمال سحرخیز- محسن شیردل- کهزاد سرطاوی- حمید مزارعی
اثر خاموشی ژن چالکون ایزومراز بر مسیر تولید رنگ در گیاه اطلسی با استفاده از فناوری RNAi........ ۴۱۱
فاطمه کیخا آخر- عبدالرضا باقری- نسرین مشتاقی- مسعود فخرفشانی
ارزیابی پاسخ‌های رشدی، عملکردی و فیزیولوژیکی خیار شاخدار آفریقایی (*Cucumis metuliferus* L.) به تنش کم آبیاری........ ۴۲۵
مسلم قریشی- فاطمه نکونام- طاهر برزگر- جعفر نیکبخت
اثر نانو کامپوزیت گلایسین بتائین پوشش‌دار شده با کیتوسان بر ریز غده‌زایی درون شیشه‌ای سیب زمینی رقم آگریا تحت شرایط تنش شوری ملایم........ ۴۳۹
صدیقه محمودی سوره- علیرضا مطلبی آذر- جابر پناهنده- غلامرضا گوهری- امین جهانیان
بررسی اثر قارچ میکوریزا (*Piriformospora indica*) بر صفات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه دارویی استویا (*Stevia rebaudiana*) تحت تنش خشکی........ ۴۵۵
اسمعیل نبی‌زاده- مسعود حق‌شناس - خدیجه احمدی
تأثیر محلول‌پاشی زمستانه اوره بر تغییرات پلی‌آمین‌های برگ، گره، عملکرد و خصوصیات زایشی درختان نارنگی 'کینو'........ ۴۶۹
فاطمه کرم نژاد- نوراله معلمی- اسماعیل خالقی

ادامه فهرست داخل جلد

نشریه علمی علوم باغبانی جلد ۳۷ شماره ۲ سال ۱۴۰۲

2023 No. 2 Vol. 37 Journal of Horticultural Science

Journal of Horticultural Science
(Agricultural Science and Technology)

Ferdowsi University of Mashhad

Vol. 37 No. 2
2023

ISSN:2008-4730

Contents

Biochemical Properties of Twelve Indigenous Barberry (*Berberis* spp.) Genotypes........ 293
A. Balandari, M. Azizi, M. Khodabandeh
A Study on Effects of Chemical Fertilizer and Organic Manures on Kiwifruit (*Actinidia deliciosa*, cv. Hayward) Quality during Cold Storage........ 307
M. Kiaeshkevarian, T. Raiesi, B. Moradi, J. Fattahi Moghadam- M. Faghih Nasiri
Effect of Some Inorganic and Organic Fertilizers' Application and Drought Stress on Superoxide Dismutase and Peroxidase Activities and Total Soluble Protein of Bidane-Ghermez Grapevines........ 325
A. Fatemi- A. Safari- M. Saiedi- Z. Kolahchi
Effectiveness of Acid Gibberellic and Magnetic Field on Shelf Life and Post-Harvest Life of Strawberry cv. Selva under Temperature Stress Conditions........ 337
M.R. Zandi, A.H. Aboutalebi Jahromi, B. Behroznam, A.R. Zakerin
Investigating the Effect of Foliar Applied Proline on the Photosynthetic Pigments Content and Osmolytes of Pistachio Rootstock UCB1 under Water Stress Conditions........ 351
M. Fattahi- A. Mohammadkhani
Study of Agronomic Traits, Yield Performance and Economical Indices in Intercropping of Spinach with Chickpea........ 363
J. Hamzei, M. Khishvand
Improving the Antioxidant Activities of Sweet Basil (*Ocimum basilicum* L.) under the Influence of Different Species of Mycorrhiza under Water Stress........ 377
M. Amani, M. Sabzi-Nojadeh, S. Alizadeh-Salteh, M. Younessi-Hamzekhanlu, B. Farmani, H. Hatef Heris, Sh. Mohammadian, S. Piretarighat
Eco-physiological, Biochemical and Herbicidal Characteristics of *Lavandula stricta*, *Cassia obovata*, *Cocculus pendulus* and *Solanum xanthocarpum*........ 391
H. Gholami, M.J. Saharkhiz, M. Shirdel, K. Sartavi, H. Mazareie
The Effect of Chalcone Isomerase Gene Silencing on Pigment Production Pathway in *Petunia hybrida* with RNAi Technology........ 409
F. Keykha Akhar, A.R. Bagheri, N. Moshtaghi, M. Fakhrfeshani
The Evaluation of Growth, Yield and Physiological Responses of African Horned Cucumber (*Cucumis metuliferus* L.) to Deficit Irrigation........ 423
M. Ghoreyshi, F. Nekounam, T. Barzegar, J. Nikbakht
Effect of Glycine Betaine Nanocomposite Coated with Chitosan and Moderate Salinity Stress on *In vitro* Microtuberization of Potato (*Solanum tuberosum* L.) cv. Agria........ 437
S. Mahmodi Soreh, A. Motallebi Azar, J. Panahandeh, G. Gohari, A. Jahanian
The Effect of Mycorrhizal Fungus (*Piriformospora indica*) on the Morphological, Physiological and Biochemical Traits of the Medicinal Plant Stevia (*Stevia rebaudiana*) under Drought Stress........ 453
E. Nabizadeh, M. Haghshenas, K. Ahmadi
Effect of Winter Foliar Application of Urea on Changes in Leaf and Node Polyamines, Yield and Some Characteristics of Reproductive of Kinnow Mandarin Trees........ 467
F. Karamnezhad, N. Moallemi, E. Khaleghi
Effect of the Wild Eggplant Rootstock (*Solanum torvum*) on the Drought Tolerance of Tomato Based on the Growth Indecies and Physiological Parameters........ 481
D. Akhgar, H.R. Karimi, S.R. Sahhafi, S.H. Mirdehghan
The Effect of Ascorbic Acid on Growth and Some Biochemical Properties of Bell Pepper (*Capsicum annuum*) Seedling under Salinity Stress........ 497
S. Parsajoo, F. Dashti
Investigating Nano-Titanium Dioxide on the Morphological and Biochemical Characteristics of Some Strawberry Cultivars under Hydroponic Cultivation Conditions........ 509
F. Javan, Y. Selahvarzi, M. Kamali

Continue Content in cover

نشریه علوم باغبانی

(علوم و صنایع کشاورزی)

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

جلد 37 شماره2 تابستان 1402

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)
	حسن زاده مبینی، سعید	استاد- بخش بیولوژی (دانشگاه کویین کانادا)
	خانی زاده، شاهرخ	پژوهشگر - موسسه کشاورزی و غذا اوتاوا کانادا
	خزاعی، حمید	پژوهشگر مرکز جهانی اصلاح و تولید بذر سبزی تایوان
	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)
	فوجی، یوشی هارو	استاد- دانشگاه کشاورزی و فناوری توکیو ژاپن

ناشر: 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

خصوصیات بیوشیمیایی میوه دوازده ژنوتیپ بومی زرشک (*Berberis* spp.) 295
احمد بالندری - مجید عزیزی - مهسا خدابنده

بررسی تاثیر کودهای آلی و شیمیایی بر کیفیت میوه کیوی رقم 'هایوارد' طی نگهداری در سردخانه 309
معصومه کیاشکوریان - طاهره رئیسی - بیژن مرادی - جواد فتاحی مقدم - مازیار فقیه نصیری

تأثیر کاربرد برخی کودهای شیمیایی و آلی و تنش خشکی بر فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دسموتاز، پراکسیداز و پروتئین محلول کل در انگور رقم 'بیدانه قرمز' 327
اکرم فاطمی - آسیه صفری - محسن سعیدی - زهرا کلاه چی

اثر جیبرلیک‌اسید و میدان مغناطیسی بر ماندگاری توت‌فرنگی رقم 'سلوا' در شرایط تنش دمایی 339
محمدرضا زندی - عبدالحسین ابوطالبی جهرمی - بهنام بهروزنام - عبدالرسول ذاکرین

بررسی تاثیر محلول‌پاشی پرولین بر میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی و اسمولیت‌های پایه UCB1 پسته در شرایط تنش آبی 353
مسعود فتاحی - عبدالرحمان محمدخانی

بررسی صفات زراعی، تولید محصول و شاخص‌های اقتصادی در کشت مخلوط اسفناج با نخود 365
جواد حمزه‌ئی - مسعود خیشوند

بهبود فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه دارویی ریحان تحت تأثیر گونه‌های مختلف قارچ میکوریزا در شرایط تنش کم‌آبی 379
مینا امانی - محسن سبزی نوجه‌ده - سعیده علیزاده سالطه - مهدی یونسی حمزه‌خانلو - بیوک آقا فرمانی - حسین هاتف هریس - شیوا محمدیان - سودا پیرطریقت

بررسی ویژگی‌های اکوفیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و علف‌کشی اسطوخودوس افراشته، سنا بومی، زامور و بادمجان وحشی 393
حسین غلامی - محمدجمال سحرخیز - محسن شیردل - کهزاد سرطاوی - حمید مزارعی

اثر خاموشی ژن چالکون ایزومراز بر مسیر تولید رنگ در گیاه اطلسی با استفاده از فناوری RNAi 411
فاطمه کیخا آخر - عبدالرضا باقری - نسرین مشتاقی - مسعود فخرفشانی

ارزیابی پاسخ‌های رشدی، عملکردی و فیزیولوژیکی خیار شاخدار آفریقایی (*Cucumis metuliferus* L.) به تنش کم آبیاری 425
مسلم قریشی - فاطمه نکونام - طاهر برزگر - جعفر نیکبخت

اثر نانو کامپوزیت گلایسین بتائین پوشش‌دار شده با کیتوسان بر ریز غده‌زایی درون شیشه‌ای سیب زمینی رقم آگریا تحت شرایط تنش شوری ملایم 439
صدیقه محمودی سوره - علیرضا مطلبی آذر - جابر پناهنده - غلامرضا گوهری - امین جهانیان

بررسی اثر قارچ میکوریزا (*Piriformospora indica*) بر صفات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه دارویی استویا (*Stevia rebaudiana*) تحت تنش خشکی 455
اسمعیل نبی‌زاده - مسعود حق‌شناس - خدیجه احمدی

تأثیر محلول‌پاشی زمستانه اوره بر تغییرات پلی‌آمین‌های برگ، گره، عملکرد و خصوصیات زایشی درختان نارنگی 'کینو' 469
فاطمه کرم نژاد - نوراله معلمی - اسماعیل خالقی

تاثیر پایه بادنجان وحشی (*Solanum torvum*) بر میزان تحمل به تنش خشکی گوجه‌فرنگی بر اساس شاخص‌های رشدی و فیزیولوژیکی 483
دامون اخگر - حمید رضا کریمی - سید رسول صحافی - سید حسین میردهقان

اثر اسید آسکوربیک بر رشد و برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی نشاء فلفل دلمه‌ای (*Capsicum annuum*) تحت تنش شوری 499
سپیده پارساجو - فرشاد دشتی
بررسی نانو دی‌اکسید تیتانیوم بر ویژگی‌های مورفولوژیک و بیوشیمیایی برخی از رقم‌های توت‌فرنگی در شرایط کشت هیدروپونیک 511
فاطمه جوان - یحیی سلاح ورزی - مریم کمالی
بررسی اثر سطوح مختلف تنش خشکی بر ارقام بادام 525
اسماعیل صفوی - مهراب یادگاری - سید اصغر موسوی - بیژن حقیقتی
بررسی نقش اسید هیومیک برسمیت کروم و چگونگی جذب و انتقال آن در گیاه کاهو (*Lactuca sativa* L. var. longifolia) 543
آزاده امیدی - علیرضا آستارایی - حجت امامی
تأثیر ملاتونین بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی گشنیز (*Coriandrum sativum* L.) و شوید (*Anethum graveolens* L.) تحت شرایط تنش شوری 563
میلاد چراغی - علی اصغر حاتم نیا - فردین قنبری
مطالعه تغییرات برخی روابط آبی و فتوسنتز خالص سه توده ملون ایرانی (*Cucumis melo*) تحت تنش کم آبی 579
نجمه زینلی‌پور - فاطمه عاقبتی

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

Research Article
Vol. 37, No. 2, Summer 2023, p. 293-306

Biochemical Properties of Twelve Indigenous Barberry (*Berberis* spp.) Genotypes

A. Balandari[1*], M. Azizi[2], M. Khodabandeh[3]

Received: 19-11-2018 Revised: 15-02-2021 Accepted: 10-03-2021 Available Online: 10-03-2021	**How to cite this article:** Balandari, A., Azizi, M., & Khodabandeh, M. (2023). Biochemical properties of twelve indigenous barberry (*Berberis* spp.) genotypes. *Journal of Horticultural Science*, *37*(2), 293-306. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jhs.2021.61176.0

Introduction

Barberries are small fruits with appealing colors and tastes, and have a great diversity in Iran. There are numerous indigenous barberry genotypes in Iran, which have remarkable therapeutical and nutritional attributes. Seedless barberry is the most famous genotype which fruits are rich in phytochemicals. Although Iran is one of the main habitats of the barberry species and hybrids and the seedless cultivar is considered as an exclusive crop for our country, a few products are being produced from such valuable crop in food industries.

Materials and Methods

In present study, fruit biochemical properties of the twelve barberry genotypes (including one seedless genotype and eleven seedy genotypes: 2-2, 4-1, 5-1, 5-2, 5-3, 8-3, 10-1, 11-1, 12-1, 13-1 and 14-2) of the barberry collection located in Research Institute of Food Science and Technology of Mashhad, were evaluated based on the fruit appearance. For this purpose, fruits were harvested in 2015 harvest time and divided into two parts. One part was dried in room temperature. Then dried fruits were kept in cool and dark place until analyses. The other part was kept fresh for some measurements including TSS, TA, TSS/TA and pH. Before all tests, fruits were deseeded and the properties of the pulp were determined. Biochemical properties included total soluble solid (TSS), titratable acidity (TA), TSS/TA ratio, fruit juice pH, total phenol content, total flavonoid content, total anthocyanin content, protein content, crude fiber, total sugar and minerals including Iron (Fe), Magnesium (Mg), Zinc (Zn) and Copper (Cu). Data analysis was performed based on completely randomized design by Minitab software version 16 using analysis of variance (ANOVA) and differences among means were determined for significance at $p \leq 0.05$ using Tukey's range test.

Results and Discussion

Results showed significant variation in biochemical properties of genotypes. Based on the results, genotype code #13-1 had the highest content of titratable acidity (5.61 g malic acid per 100 g fresh fruit weight) and the highest soluble solids content (5.5 °Brix). The highest amount of crude fiber (54.96%), Fe (138.49 ppm), Mg (1426.39 ppm) was related to genotype code #10-1 and the highest amount of anthocyanin (452.60 mg/100g), protein (4.26%) and Cu (6.80 ppm) belonged to genotype code #14-2. Two genotypes "Bidaneh" and code #5-3 displayed a distinctive content of total carbohydrates with respectively 59.61% and 25.67%. Furthermore, genotype code #11-1 showed the highest amount of Zn (18.85 ppm) among all.

1- Assistant Professor, Department of Food Safety and Quality Control, Research Institute of Food Science and Technology, Mashhad, Iran
(*- Corresponding Author Email: balandary1339@yahoo.com)
2 and 3- Professor and Ph.D. Student, Department of Horticultural Science and Landscape Architecture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran, respectively.
DOI: 10.22067/jhs.2021.61176.0

Conclusion

Up to now, barberry mostly has been consumed as a food seasoning and garnish. All data of this study suggest that barberry, as a functional food, can partially cover the body's daily requirements. Therefore, a comprehensive study should be performed to determine all the capacities and uses associated with each genotype. Overall, genotype code #14-2 can be introduced as the best genotype in terms of flavonoid, anthocyanin, protein and copper content of all the evaluated genotypes. Considering its high content of anthocyanin, producing an edible colorant powder is possible. In conclusion, considering the great diversity, fruits of indigenous barberry genotypes can provide a rich source of minerals and phytochemicals for food purposes. Furthermore, achieving applied science in making products from such indigenous crop could lead into investments and economic development in regions in which barberry is cultivated.

Keywords: Anthocyanin, Barberry, Flavonoid, Minerals

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

مقاله پژوهشی
جلد ۳۷، شماره ۲، تابستان ۱٤۰۲، ص. ۳۰٦-۲۹۳

خصوصیات بیوشیمیایی میوه دوازده ژنوتیپ بومی زرشک (*Berberis* spp.)

احمد بالندری[1*] - مجید عزیزی[2] - مهسا خدابنده[3]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۸/۲۸
تاریخ بازنگری: ۱۳۹۹/۱۱/۲۷
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۲/۲۰

چکیده

انواع زرشک، ریزمیوه‌هایی با رنگ‌ها و طعم‌های جذاب هستند که تنوع بی‌نظیری در ایران دارند. در این پژوهش خصوصیات بیوشیمیایی میوه دوازده ژنوتیپ بومی زرشک مورد مطالعه قرار گرفت. این خصوصیات شامل درصد مواد جامد محلول (TSS)، اسیدیته قابل تیتراسیون (TA)، نسبت TSS/TA، pH، میزان فنل کل، فلاونوئید کل، آنتوسیانین کل، محتوای پروتئین، فیبر خام، قند کل، عناصر معدنی شامل آهن، منیزیوم، روی و مس بودند. نتایج حاکی از تنوع بالای خصوصیات بیوشیمیایی در میان ژنوتیپ‌ها بود. کدژنوتیپ ۱-۱۳ دارای بیشترین TA (۵/۶۱ گرم اسید مالیک در ۱۰۰ گرم وزن تر) و بیشترین TSS (°Brix ۵/۵۰) بود. کدژنوتیپ ۱-۵ دارای بیش‌ترین میزان فنل کل (۱۴۸۲/۶۱ میلی‌گرم اسید گالیک) و کدژنوتیپ ۲- ۱۴ حائز بیش‌ترین میزان فلاونوئید کل (۸۳۷/۵۳ میلی‌گرم کوئرستین) و آنتوسیانین کل (۴۵۲/۰۶ میلی‌گرم سیانیدین۳ گلیکوزید) در یک‌صد گرم میوه خشک بود. بالاترین میزان فیبرخام (۵۴/۹٦ درصد)، آهن (۱۳۸/۴۹ قسمت در میلیون) و منیزیوم (۱۴۲۶/۳۹ قسمت در میلیون) مربوط به کدژنوتیپ ۱-۱۰ و بالاترین میزان پروتئین (۴/۲۶ درصد) و مس (۶/۸۰ قسمت در میلیون) به کدژنوتیپ ۲-۱۴ اختصاص یافت. از لحاظ محتوای قند کل، دو کدژنوتیپ بی دانه و ۳-۵ به ترتیب با میزان ۵۹/۶۱ و ۲۵/۶۷ درصد قند، تفاوت چشمگیری نسبت به سایر کدژنوتیپ‌ها داشتند. در مجموع ارزیابی صفات اندازه‌گیری شده، کدژنوتیپ ۲-۱۴ به دلیل دارا بودن بالاترین میزان فلاونوئید کل، آنتوسیانین کل، پروتئین و مس ژنوتیپ برتر بود. بررسی خصوصیات بیوشیمیایی میوه زرشک‌های بومی و بهره‌وری از ارزش‌های تغذیه‌ای این محصول ارزشمند می‌تواند منجر به کسب دانش فنی در زمینه تهیه فرآورده‌های غذایی زرشک به عنوان یک فناوری بومی شده و سبب توسعه اقتصادی در مناطق تولید زرشک گردد.

واژه‌های کلیدی: آنتوسیانین، زرشک، عناصر معدنی، فلاونوئید

مقدمه

زرشک از جمله درختچه‌های بومی کشورمان است که در مقابل کم‌آبی و شوری آب و خاک تحمل خوبی داشته و قابلیت رشد و تولید در زمین‌های کم‌بهره را داراست. جنس زرشک دارای بیش از ۶۵۰ گونه است که تاکنون حدود ۶۰ هیبرید بین گونه‌ای آن نیز شناسایی شده است (Rezaei and Balandari, 2015; Pirkhezri, 2022). در ایران وجود ۵ گونه وحشی زرشک دانه‌دار گزارش شده که شامل زرشک معمولی (*Berberis vulgaris*)، زرشک راست خوشه (*B. orthobotrys*)، زرشک خراسانی (*B. khorasanica*)، زرشک زالزالکی (*B. crataegina*) و زرشک زرافشانی (*B. integerrima*) می‌باشند. در مورد گونه‌های زرشک موجود در ایران به خصوص در زرشک‌های زرافشانی و زالزالکی اسامی علمی مشابه زیادی وجود دارد. این گیاه در ایران پراکنش و تنوع زیادی داشته و علاوه بر خراسان در آذربایجان، گیلان، مازندران، گلستان، تهران، سمنان، کرمان، اصفهان و فارس رویش دارد (Kafi and Balendari, 2002). میوه زرشک دارای ترکیبات قندی، اسید مالیک، اسید سیتریک، اسید تارتریک، مواد پکتینی و ترکیبات رنگی از قبیل

۱- استادیار گروه ایمنی و کنترل کیفیت مواد غذایی، موسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی مشهد
(*- نویسنده مسئول: Email: balandary1339@yahoo.com)
۲ و ۳- به‌ترتیب استاد و دانشجوی دکتری گروه علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
DOI: 10.22067/jhs.2021.61176.0

آنتوسیانین‌ها، فلاونوئیدها و کارتنوئیدهاست (Ruiz *et al.*, 2010). از مهمترین آنتوسیانین‌های زرشک‌ها می‌توان به سیانیدین-۳-گلوکوزید، سیانیدین-۳-روتینوزید، دلفینیدین-۳-گلوکوزید، دلفینیدین-۳-روتینوزید، پتونیدین-۳-گلوکوزید، پتونیدین-۳-روتینوزید، پئونیدین-۳-گلوکوزید، پئونیدین-۳-روتینوزید، پلارگونیدین-۳-گلوکوزید و سیانیدین ۳ و ۵ دی گلوکوزید اشاره کرد. همچنین زرشک دارای مواد معدنی، ترکیبات زیست‌فعال و مغذی است (Jiménez *et al.*, Farhadi Chitgar and Varidi, 2014 ; 2011). از مهمترین ترکیبات فعال زیستی موجود در میوه زرشک می توان به ترکیبات فنلی و آنتوسیانین‌ها اشاره کرد، که دارای خواص ویژه آنتی‌اکسیدانی هستند. بنابراین می‌توان از میوه‌های زرشک به عنوان یک منبع بومی مناسب برای استحصال ترکیبات آنتی‌اکسیدان طبیعی جهت کاربرد در فراورده‌های غذایی استفاده نمود (Awan *et al.*, 2014). ارزیابی خصوصیات بیوشیمیایی ژنوتیپ‌های بومی زرشک در راستای کاربرد آن‌ها در فرآورده‌های غذایی، سبب توجه بیشتر به تولید فراورده‌های متنوع از آن‌ها خواهد شد. علیرغم اینکه در طول سه دهه گذشته، پژوهش‌هایی در رابطه با فراوری زرشک تهیه کنستانتره، آب میوه و نوشابه گازدار زرشک و تولید فرآورده‌های مختلف از زرشک و نیز بهبود و توسعه فناوری تولید زرشک انجام شده اما برای تهیه فرآورده‌های جدید زرشک، اطلاع دقیق از نوع و میزان ترکیبات بیوشیمیایی و عناصر مغذی آن لازم است (; Bandaru and Ardestani *et al.*, 2013Alizadeh *et al.*, 2021 ; Khojastehmanesh, Shahdadi, 2022Bakshi, 2020 ;). حصول دانش فنی فرآوری میوه زرشک و اجرای آن در منطقه می‌تواند به صورت یک فناوری منحصر به فرد و بومی، ضمن ارتقای علمی، سبب گسترش و توسعه اقتصادی و صنعتی در منطقه پرورش آن گردد. شایان توجه است که انواع کرن‌بری‌ها به عنوان یکی از ریزمیوه‌های بومی آمریکا، در بیش از ۷۰۰ نوع محصول تولید شده توسط صنعت فرآوری این کشور به عنوان یکی از اجزاء محصول کاربرد دارند (Vattem and Shetty, 2003). با افزوده شدن ترکیبات زیست‌فعال و برخی باکتری‌های پروبیوتیک به فرآورده‌های غذایی، محصول فراسودمند تولید می‌شود، این محصولات ضمن دارا بودن ارزش تغذیه ای زیاد، سبب افزایش سطح سلامتی در جامعه می‌گردند. پژوهش‌ها حاکی از آن است که زرشک می‌تواند به عنوان یک ماده غذایی فراسودمند، به فرآورده‌های غذایی نظیر ماست افزوده شود. پژوهش‌ها نشان داده است که میوه ژنوتیپ‌های دانه‌دار زرشک، غنی از ریزمغذی‌های مورد نیاز بدن انسان نظیر پتاسیم، کلسیم، منیزیم و روی بودند (Farhadi Chitgar *et al.*, 2016). یک فرد بالغ به طور متوسط روزانه به ۱۸ میلی‌گرم آهن، ۴۲۰ میلی‌گرم منیزیوم، ۱۱ میلی‌گرم روی و ۰/۹ گرم مس نیاز دارد (بانک اطلاعاتی سازمان غذا و دارو ایالات متحده) که زرشک می‌تواند تامین کننده بخشی از نیاز بدن به عناصر مغذی می‌باشد. علی‌رغم اینکه ایران یکی از رویشگاه-های مهم گونه‌ها و دورگه‌های مختلف زرشک بوده و نوع بی‌دانه آن یک محصول ملی محسوب می‌شود، تعداد بسیار کمی فراورده غذایی از زرشک در دسترس می‌باشد لذا مطالعه خصوصیات بیوشیمیایی میوه توده‌های بومی زرشک با هدف فراهم نمودن مقدمات تهیه فراورده های متنوع غذایی از زرشک صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

دوازده کدژنوتیپ (یک کدژنوتیپ بی‌دانه و یازده کدژنوتیپ دانه دار شامل ۲-۲، ۱-۴، ۱-۵، ۲-۵، ۳-۵، ۳-۸، ۱-۱۰، ۱-۱۱، ۱-۱۲، ۱-۱۳ و ۲-۱۴) که از لحاظ خصوصیات ظاهری میوه متمایز بودند، از میان بیش از ۳۰ کد ژنوتیپ موجود در باغ کلکسیون زرشک (تاسیس ۱۳۷۷) موسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی واقع در مشهد انتخاب گردید (شکل ۱). منشاء کدژنوتیپ‌های بی‌دانه،۲-۲، ۱-۴، ۱-۵، ۲-۵، ۳-۵، ۳-۸ و همچنین کدژنوتیپ ۱-۱۱، استان خراسان جنوبی و منشاء سایر کدژنوتیپ‌ها مناطق اکوتونی مابین شاهرود در استان سمنان و استان گلستان می‌باشد.

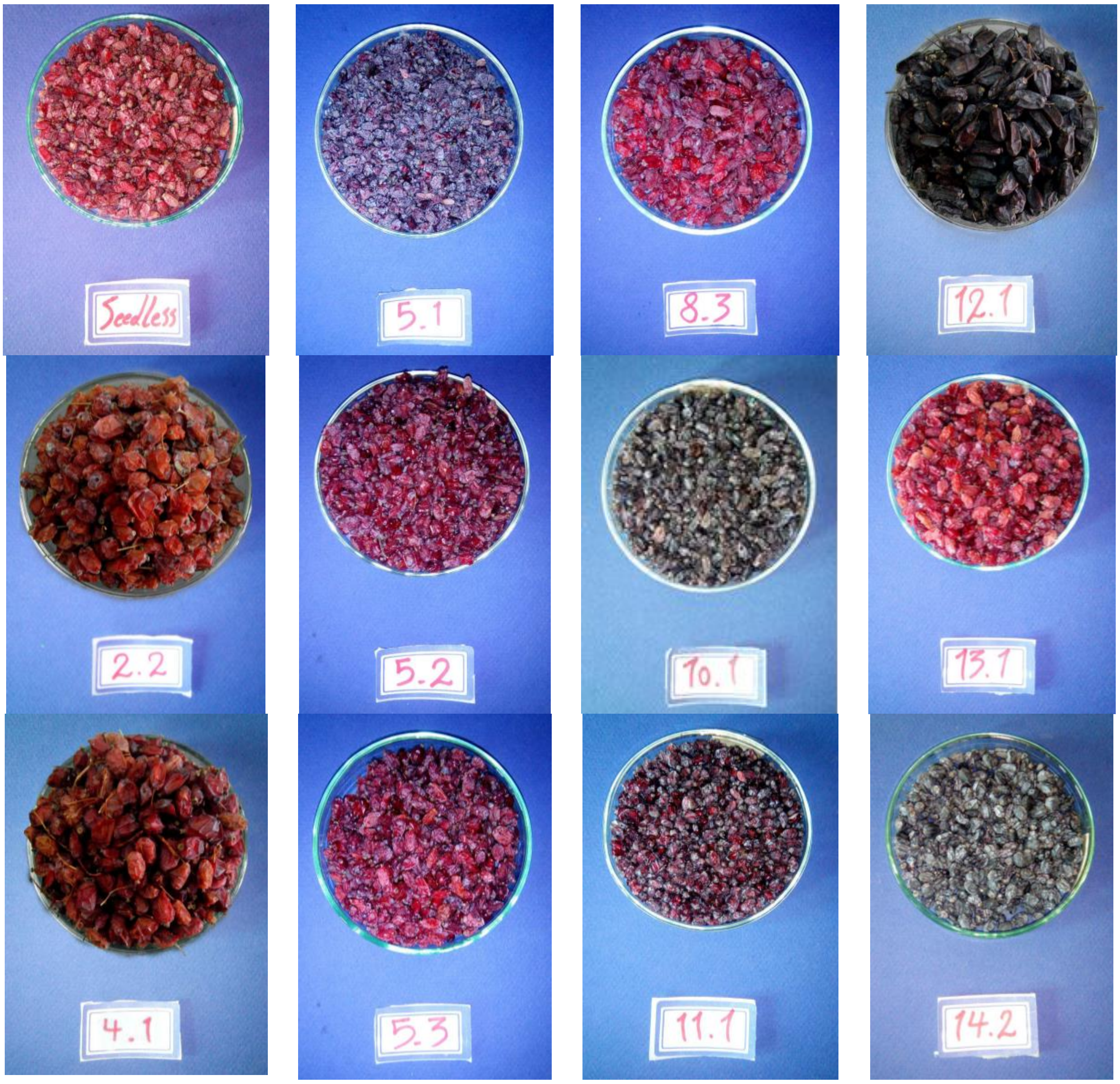
علت انتخاب یازده توده بومی همراه با زرشک بی دانه در این طرح، وجود تفاوت بارز در برخی خصوصیات ظاهری آن‌ها از نظر اندازه، رنگ و طعم میوه (جدول ۱) و در مورد کدژنوتیپ‌های ۱-۵ و ۱-۱۱ شباهت آن‌ها به یکدیگر علی‌رغم تفاوت منطقه جغرافیایی بود. به منظور نمونه‌برداری، از هر کدژنوتیپ ۳ درختچه (۲۰ ساله) به عنوان سه تکرار در نظر گرفته شد. سپس در آبان ماه (زمان رسیدگی کامل میوه همه ژنوتیپ‌ها[1]) سال ۱۳۹۵ میوه‌ها از چهار سمت هر درختچه برداشت و بخشی از آن در شرایط خشک‌کن معمولی (اتاق)، هواخشک و بخش دیگر تا زمان انجام آزمایش در یخچال نگهداری شد.

خصوصیات بیوشیمیایی شامل میزان رطوبت، فنل کل، فلاونوئید کل، آنتوسیانین کل، محتوای پروتئین، فیبر خام، قند کل، عناصر معدنی شامل آهن (Fe)، منیزیوم (Mg)، روی (Zn) و مس (Cu) در پالپ میوه خشک (بذرگیری شده) و میزان آب میوه، مواد جامد محلول (TSS)، اسیدیته قابل تیتراسیون (TA)، نسبت TSS/TA، pH، در پالپ میوه تازه اندازه‌گیری شدند. به منظور تعیین میزان اسیدیته قابل تیتراسیون، pH و مواد جامد محلول، مقدار ۵ گرم میوه تازه به روش دستی آبگیری شد و سپس با ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر، رقیق و pH آن با قرار دادن الکترود pH متر در نمونه تعیین گردید. با توجه به رنگی بودن آب میوه زرشک، میزان اسیدیته به روش تیتراسیون، با اندازه گیری مداوم pH تا رسیدن به pH= ۸/۳ به جای استفاده از معرف

۱- تغییر رنگ کامل میوه مطابق با زمان برداشت کشاورزان منطقه

فنل فتالئین انجام شد (Farhadi Chitgar and Varidi, 2014). با توجه به اینکه اسید مالیک، اسید غالب میوه زرشک می‌باشد (Özgen *et al*., 2012)، میزان اسیدیته بر حسب اسید مالیک محاسبه گردید.

مقدار مواد جامد محلول در آب‌میوه به کمک رفرکتومتر و بر اساس درجه بریکس اندازه‌گیری شد (Farhadi Chitgar *et al*., 2016). عصاره‌گیری به منظور تعیین فنل کل به روش پنتلیدیس و همکاران (Pantelidis *et al*., 2007) انجام شد. بدین منظور ۲ گرم زرشک خشک آسیاب شده با ۲۰ میلی‌لیتر متانول ۵۰ درصد به مدت ۲۴ ساعت به روش خیساندن عصاره‌گیری گردید. سپس قسمت رویی محلول به ظرف دیگری انتقال داده شد و باقیمانده با ۲۰ میلی‌لیتر دیگر از حلال عصاره‌گیری شد. در پایان، هر دو محلول با یکدیگر مخلوط شده و به وسیله کاغذ صافی و خلاء صاف گردید. این عصاره جهت تعیین فنل و فلاونوئید استفاده شد. فنل کل با روش فولین سیکالچو اندازه‌گیری شد و سپس میزان آن با استفاده از منحنی استاندارد گالیک اسید تعیین و به صورت میلی‌گرم هم‌ارز اسید گالیک در ۱۰۰ گرم زرشک خشک بیان گردید (Pantelidis *et al*., 2007).



شکل ۱- میوه کد ژنوتیپ‌های زرشک بررسی شده

Figure 1- Fruits of the evaluated barberry code-genotypes

جدول ۱- برخی خصوصیات ارگانولپتیکی میوه دوازده کدژنوتیپ زرشک مورد بررسی

Table 1- Some fruit organoleptic properties of the evaluated barberry code-genotypes

کد ژنوتیپ Code-genotype	رنگ میوه Fruit color	طعم و مزه میوه Fruit flavor	اندازه میوه Fruit size	سایر خصوصیات Other features
Seedless	قرمز Red	مطلوب Favorable	متوسط Average-sized	طعم ترش و شیرین Sweet-and-sour taste
2-2	نارنجی Orange	نسبتا نامطلوب Relatively unfavorable	نسبتا کوچک Relatively small	میوه گرد، کم‌دانه و خوشرنگ Low-seeded round colorful fruit
4-1	قرمز Red	نسبتا نامطلوب Relatively unfavorable	نسبتا درشت Relatively large	خوشه بلند Large fruit cluster
5-1	زرشکی تیره Dark crimson	مطلوب Favorable	متوسط Average-sized	جگری رنگ Maroon-color
5-2	قرمز Red	مطلوب Favorable	متوسط Average-sized	شباهت طعم به بی‌دانه Flavor similar to seedless genotype
5-3	قرمز Red	نسبتا مطلوب Relatively favorable	متوسط Average-sized	خوشه بلند Large fruit cluster
8-3	قرمز Red	نسبتا مطلوب Relatively favorable	درشت Large	طعم خیلی ترش Very sour taste
10-1	بنفش تیره Dark purple	نامطلوب unfavorable	متوسط Average-sized	طعم گس و پُر دانه Astringent taste, seedy fruit
11-1	زرشکی تیره Dark crimson	نسبتا مطلوب Relatively favorable	متوسط Average-sized	جگری رنگ Maroon-color
12-1	زرشکی بسیار تیره Very dark crimson	نسبتا نامطلوب Relatively unfavorable	متوسط Average-sized	میوه کشیده، خار بلند Elongated fruit, long thorn
13-1	قرمز Red	مطلوب Favorable	نسبتا درشت Relatively large	پُر محصول Fruitful
14-2	آبی تیره Dark blue	نسبتا مطلوب Relatively favorable	نسبتا کوچک Relatively small	خوشه کوتاه متراکم Short compact fruit cluster

به منظور تعیین فلاونوئید کل، ۱۸ میلی‌لیتر از عصاره به دست آمده به وسیله دستگاه روتاری اواپراتور (تقطیر در خلاء) خشک و در ۷ میلی‌لیتر محلول متانول ۵۰ درصد- دی‌متیل سولفوکساید (با نسبت ۵۰:۵۰) حل شد. سپس میزان فلاونوئید کل به روش شماره یک «رنگ سنجی آلومینیوم کلرید» مورد استفاده توسط پکال و همکاران (Pękal and Pyrzynska, 2014) تعیین گردید. میزان آنتوسیانین کل نیز به روش یانگ و همکاران (Yang *et al*., 2012) تعیین شد. جهت تعیین میزان آنتوسیانین کل طبق روش pH افتراقی عمل شد و غلظت آنتوسیانین به وسیله فرمول‌های زیر (۱ و ۲) محاسبه گردید:

$$\text{غلظت آنتوسیانین}\ (mg.L^{(-1)}) = (A \times MW \times DF \times 1000)/£ \times 1 \quad (۱)$$

$$A = (A_{510} - A_{700})_{pH\ 1.0} - (A_{510} - A_{700})_{pH\ 4.5} \quad (۲)$$

A = جذب

MW = وزن مولکولی آنتوسیانین غالب (سیانیدین ۳- گلیکوزید = $g.mol^{-1}$ ۴۴۹/۲

£ = ضریب خاموشی سیانیدین-۳-گلیکوزید = ۲۶۹۰۰

DF = فاکتور رقت

۱ = عرض عبور نور از سل = ۱ سانتی‌متر

میزان آب میوه تازه از طریق اندازه‌گیری تفاوت وزن مقدار معینی زرشک تازه به دست آمد. درصد رطوبت زرشک خشک نیز به روش توزین میوه‌های هواخشک‌شده، قبل و بعد از قرار دادن در آون ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد تعیین گردید (Farhadi Chitgar *et al*., 2016). تعیین میزان پروتئین نمونه ها به روش کجلدال صورت گرفت. محتوای فیبرخام توسط روش رایج هضم اسیدی و سوزاندن در کوره الکتریکی محاسبه گردید (AOAC, 2005)، قند کل بر اساس روش مک کریدی (۱۹۵۰) و میزان عناصر معدنی با استفاده از دستگاه (ICP- OES) تعیین گردید (McCreadyGulsoy *et al*., 2011 ; *et al*., 1950). آنالیز آماری داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی، توسط نرم‌افزار مینی‌تب (Minitab) نسخه ۱۶ با استفاده از تجزیه واریانس و مقایسه میانگین در سطح معنی‌داری $p \leq ۰/۰۵$ و توسط آزمون توکی انجام گرفت.

نتایج و بحث

بر طبق جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) در بین کدژنوتیپ‌های زرشک مورد بررسی، از نظر خصوصیات بیوشیمیایی تفاوت معنی‌داری در سطح ۱ درصد مشاهده شد.

جدول ۲- تجزیه واریانس خصوصیات بیوشیمیایی در کدژنوتیپ‌های زرشک مورد بررسی

Table 2- ANOVA for the biochemical properties in the evaluated barberry code-genotypes

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean squares								
		رطوبت Moisture	آبمیوه Fruit Juice	مواد جامد محلول TSS	اسیدیته قابل تیتراسیون TA	نسبت TSS/TA	اسیدیته pH	فنل کل Total phenol	فلاونوئید کل Total flavonoid	آنتوسیانین کل Total anthocyanin
ژنوتیپ Genotype	11	3.93**	149.78**	1.66**	3.07**	0.29**	0.05**	119599**	115091**	68346**
خطا Error	24	0.97	4.00	0.199	0.24	0.02	0.004	13678	2397	432
کل Total	35									
ضریب تغییرات CV (%)		13.27	11.43	20.49	26.61	31.19	4.78	18.08	44.76	72.20

ns، * و **: به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطوح احتمال ۵ و درصد۱.

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

ادامه جدول ۲- تجزیه واریانس خصوصیات بیوشیمیایی در کدژنوتیپ‌های زرشک مورد بررسی

Table 2 Continued- ANOVA for the biochemical properties in the evaluated barberry code-genotypes

منبع تغییرات SV	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean squares						
		فیبر خام Crude fiber	پروتئین کل Total protein	قند کل Total sugar	Fe	Mg	Zn	Cu
ژنوتیپ Genotype	11	549.56**	0.61**	842.27**	1214.1**	310280**	26.95*	1.798**
خطا Error	24	4.46	0.15	19.73	130.1	3392	8.99	0.12
کل Total	35							
ضریب تغییرات CV (%)		96.26	15.94	161.77	20.08	60.49	29.86	16.96

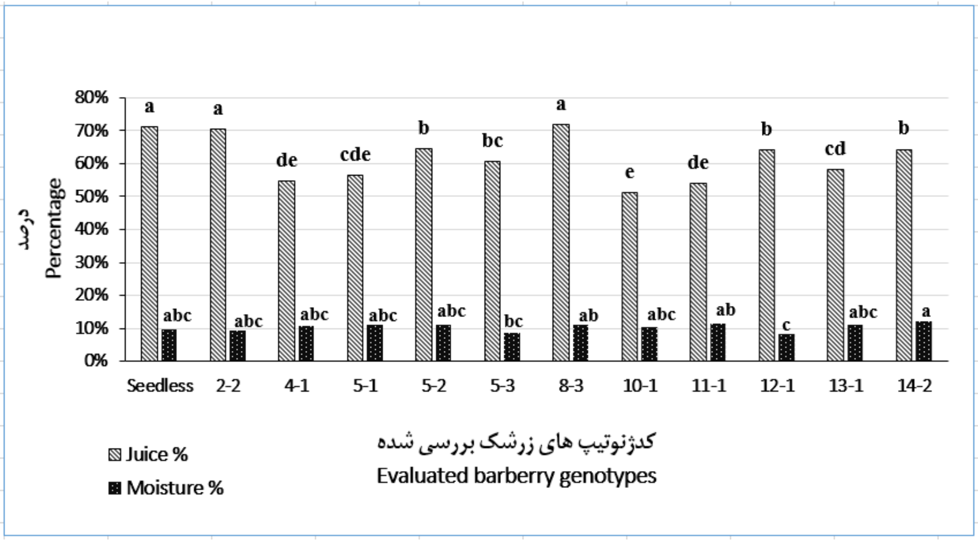
ns، * و **: به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد.

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

درصد رطوبت و آبمیوه

با توجه به بررسی‌های انجام گرفته، بین برخی کدژنوتیپ‌ها از نظر درصد آب میوه و درصد رطوبت اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. طبق نتایج، کدژنوتیپ ۳-۸ دارای بیش‌ترین درصد آبمیوه (۷۱/۸۷ درصد) بود و پس از آن ژنوتیپ بی‌دانه (۷۱/۱۶ درصد) قرار داشت که با محتوای رطوبتی میوه تازه (درصد آب‌میوه) زرشک *B. vulgaris* (۷۱/۴۲ درصد) که قبلا توسط آکبولوت و همکاران (Akbulut *et al.*, 2009) گزارش شده بود، همخوانی داشت. همچنین کدژنوتیپ ۲-۲ نیز دارای درصد آب میوه برابر با ۷۰/۴۶ درصد بود که از این نظر با ژنوتیپ بی‌دانه اختلاف معنی‌داری نداشت؛ بنابراین کدژنوتیپ های ۳-۸ ، بی دانه و ۲-۲ را می توان در گروه ژنوتیپ های آبدار قرار داد. در میان کدژنوتیپ‌ها، کدژنوتیپ ۱-۱۰ دارای کم‌ترین درصد آب میوه (۵۱/۲۲ درصد) و کم‌ترین درصد رطوبت (۸/۱۹ درصد) بود. همچنین کدژنوتیپ ۲-۱۴ بیش‌ترین درصد رطوبت (۱۲ درصد) را نشان داد (شکل ۲). تاکنون اثبات شده است که ارتباط تنگاتنگی بین محتوای رطوبتی و نگهداری محصولات کشاورزی وجود دارد و بررسی قابلیت نگهداری ژنوتیپ‌های مختلف در انبار نیاز به بررسی‌های بیش‌تری دارد. درصد آب میوه نیز در تعیین نوع مصرف میوه موثر می‌باشد. سود و همکاران (Sood *et al.*, 2010) میزان

محتوای رطوبتی میوه تازه را برای گونه زرشک (*Berberis lycium*) ۰/۱۲ ± ۸۳/۲۹ درصد ذکرنمودند. رویز و همکاران (Ruiz *et al.*, 2010) نیز به بررسی چهار نوع میوه کالافاته (*Berberis microphylla*) پرداختند و مقادیر ۶۵/۶ درصد تا ۷۸/۶ درصد را برای دامنه درصد رطوبت میوه تازه گزارش کردند. آوان و همکاران (Awan *et al.*, 2014) نیز میزان رطوبت میوه تازه سه گونه زرشک پاکستان (*calliobotrys*، *orthobotrys* و *psedumbellata*) را مورد بررسی قرار دادند و گزارش کردند که گونه *calliobotrys* با ۸۰/۴۷ درصد دارای بالاترین میزان درصد رطوبت نسبت به دو گونه *orthobotrys* (۷۴ /۹۶ درصد) و *psedumbellata* (۸۰/۱۳ درصد) می‌باشد (Awan *et al.*, 2014).



شکل ۲- درصد رطوبت میوه و آبمیوه کدژنوتیپ‌های زرشک بررسی شده

Figure 2- Fruit moisture and juice percentage of the evaluated barberry genotypes
(Tukey, $p \leq 0.05$).

مواد جامد محلول (TSS)، اسیدیته قابل تیتراسیون (TA)، نسبت TSS/TA، pH

بر اساس نتایج مقایسه میانگین (جدول ۳) کدژنوتیپ ۱-۱۳ با pH= ۲/۷، دارای بیشترین اسیدیته قابل تیتراسیون (TA) (۵/۶۱ گرم اسید مالیک در ۱۰۰ گرم وزن تر) و بیشترین مواد جامد محلول (۵/۵۰°Brix) بود. بیشترین نسبت TSS/TA (۱/۸۹) به کدژنوتیپ ۲-۵ اختصاص یافت که دارای کم‌ترین میزان اسیدیته قابل تیتراسیون (۲/۶۴ گرم اسید مالیک در ۱۰۰ گرم وزن تر) بود. کمترین میزان TSS (Brix° ۳/۰۳) مربوط به کدژنوتیپ ۲-۲ بود. همچنین بیشترین میزان pH (۳/۲) در کدژنوتیپ ۲-۱۴ مشاهده شد. آکبولوت و همکاران (Akbulut *et al.*, 2009) اسیدیته قابل تیتراسیون (۳/۱۰ درصد) و pH (۳/۳۵) را در زرشک *B. vulgaris* گزارش کرده‌اند که با نتایج پژوهش حاضر همخوانی دارد.

فرهادی چیتگر و همکاران (Farhadi Chitgar and Varidi, 2014) مقادیر اسیدیته، pH و مواد جامد محلول را در سه گونه زرشک بی‌دانه، زرافشانی و زالزالکی اندازه‌گیری کردند. آن‌ها به ترتیب مقادیر ۰/۰۱۴ ± ۳/۸۵ گرم اسید مالیک در ۱۰۰ گرم، ۰/۰۱۴ ± ۲/۷۱ و ۰/۲۸۹ ± ۱۸/۹۷ درصد را برای زرشک بی‌دانه، مقادیر ۰/۰۷۲ ± ۵/۱۸ گرم اسید مالیک در ۱۰۰ گرم، ۰/۰۱۴ ± ۲/۵۳ و ۰/۱۵۳ ± ۱۹/۰۳ درصد را برای زرشک زرافشانی و مقادیر ۰/۳۷۰ ± ۵/۶۳ گرم اسید مالیک در ۱۰۰ گرم، ۰/۰۹۵ ± ۲/۴۹ و ۰/۴۹۰ ± ۱۷/۱۵ درصد را برای زرشک زالزالکی گزارش نمودند (Farhadi Chitgar and Varidi, 2014). همچنین فرهادی چیتگر و همکاران (Farhadi Chitgar *et al.*, 2016) مقادیر مواد جامد محلول (درصد)، pH و اسیدیته قابل تیتراسیون (گرم اسید مالیک بر ۱۰۰گرم) را در سه ژنوتیپ زرشک بومی سمنان با نام‌های نوشین، نگارین و پرچین مورد بررسی قرار دادند که مقادیر این سه خصوصیت را به ترتیب برای ژنوتیپ نوشین برابر ۰/۱۴۱± ۲۱/۶۰ درصد، ۰/۰۱۴± ۲/۸۰ و ۰/۰۱±۴/۷۴ گرم اسید مالیک بر ۱۰۰ گرم، برای ژنوتیپ نگارین به ترتیب ۰/۰۹۸± ۲۲/۲۳ درصد، ۰/۰۰۷± ۲/۶۴ و ۰/۱۳۲± ۵/۰۶ گرم اسید مالیک بر ۱۰۰ گرم و برای ژنوتیپ پرچین به ترتیب ۰/۰۷۱± ۱۹/۳۵ درصد، ۰/۰۰۷± ۲/۸۱و ۰/۰۰۹± ۴/۱۳ گرم اسید مالیک بر ۱۰۰ گرم گزارش نمودند (Farhadi Chitgar *et al.*, 2016). تفاوت نتایج به این دلیل می‌باشد که این پژوهشگران، مقادیر مواد جامد محلول را در آب میوه تازه اندازه‌گیری کردند در حالیکه در این پژوهش آبمیوه رقیق شده مورد ارزیابی قرار گرفت.

جدول ۳- برخی خصوصیات بیوشیمیایی میوه کدژنوتیپ‌های زرشک مورد بررسی
Table 3- Some fruit biochemical properties of the evaluated barberry code-genotypes

کدژنوتیپ Code-genotype	مواد جامد محلول* Total soluble solids (Brix°)	اسیدیته قابل تیتراسیون* Titratable acidity (%)	نسبت مواد جامد محلول/ اسیدیته قابل تیتراسیون* TSS/TA ratio	اسیدیته* pH	فنل کل Total phenol ($mg.100g^{-1}$)	فلاونوئید کل Total flavenoid ($mg.100g^{-1}$)	آنتوسیانین کل Total anthocyanin ($mg.100g^{-1}$)
Seedless	3.43^{c}	2.87^{ef}	1.22^{b}	2.95^{cdef}	1273.22^{abc}	492.56^{c}	343.71^{c}
2-2	3.03^{c}	2.86^{ef}	$1.06b^{c}$	2.90^{def}	1274.00^{abc}	276.15^{def}	35.96^{g}
4-1	4.28^{abc}	4.45^{abcd}	0.98^{bcd}	2.88^{def}	1386.72^{a}	273.50^{ef}	$88.81e^{fg}$
5-1	4.20^{abc}	3.88^{cdef}	1.09^{bc}	3.10^{abc}	1482.61^{a}	682.59^{b}	371.94^{bc}
5-2	4.97^{ab}	2.64^{f}	1.89^{a}	3.01^{abcde}	1225.72^{abc}	342.13^{def}	98.02^{ef}
5-3	4.00^{bc}	5.46^{ab}	0.74^{cd}	2.83^{ef}	1342.76^{ab}	249.43^{f}	123.05^{e}
8-3	3.83^{bc}	3.45^{def}	1.11^{bc}	2.92^{cdef}	1266.43^{abc}	352.68^{cdef}	105.10^{ef}
10-1	3.50^{c}	4.13^{bcde}	0.85^{bcd}	3.16^{ab}	1195.44^{abc}	415.92^{cde}	245.86^{d}
11-1	4.33^{abc}	4.13^{bcde}	1.05^{bcd}	3.08^{abcd}	1200.43^{abc}	652.31^{b}	408.29^{ab}
12-1	3.15^{c}	5.10^{abc}	0.62^{d}	2.97^{bcde}	756.30^{d}	418.46^{cd}	127.29^{e}
13-1	5.50^{a}	5.61^{a}	1.00^{bcd}	2.75^{f}	1011.42^{bcd}	219.72^{f}	$52.68f^{g}$
14-2	3.33^{c}	3.38^{def}	1.00^{bcd}	3.20^{a}	965.31^{cd}	837.53^{a}	452.06^{a}

داده‌های دارای حروف مشترک در هر ستون، فاقد اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند.

* مواد جامد محلول، اسیدیته قابل تیتراسیون، نسبت TSS/TA و نیز اسیدیته در آبمیوه رقیق شده تعیین گردیده است.

Means with similar letters in each column are not significantly different based on the Tukey test (*p≤0.05*),.

* TSS, TA, TSS/TA and pH were determined in diluted barberry juice.

فنل، فلاونوئید و آنتوسیانین کل

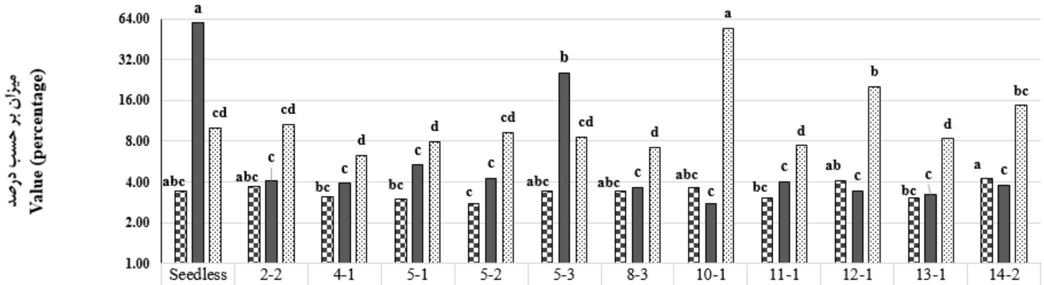
با توجه به جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) بین کدژنوتیپ‌های مورد بررسی، صفت فنل کل در سطح یک درصد معنی‌دار بودند. طبق نتایج در میان برخی کدژنوتیپ‌های مورد مطالعه از نظر میزان فنل کل، اختلاف معنی‌دار مشاهده شد (جدول ۳). کدژنوتیپ ۱-۵ با میانگین ۱۴۸۲/۶۱ میلی گرم اسید گالیک در یکصد گرم میوه خشک و پس از آن کدژنوتیپ ۱-۴ دارای بیش‌ترین میزان فنل کل و کدژنوتیپ ۱-۱۲ با ۷۵۶/۳۰ میلی‌گرم اسید گالیک در یکصد گرم میوه خشک دارای کم‌ترین میزان فنل کل بودند. گزارشات متعددی در مورد میزان فنل کل زرشک بی‌دانه وجود دارد که به نظر می‌رسد تفاوت میان این گزارشات ناشی از تفاوت در روش‌های اندازه‌گیری و نوع گزارش نتایج باشد. حسن‌پور و علیزاده (Hassanpour and Alizadeh, 2016) با بررسی ۲۰ ژنوتیپ بومی زرشک، میزان فنل گونه های *vulgaris* و *integerrima* را بین ۲۶۱/۶۸ و ۶۲۳/۰۷ میلی‌گرم در صد گرم وزن تر گزارش کردند که با در نظر گرفتن میانگین حدود ۸۰ درصد رطوبت میوه تازه زرشک، نتایج پژوهش حاضر با مقادیر گزارش شده توسط این محققین همخوانی دارد (Hassanpour and Alizadeh, 2016). آکبولوت و همکاران (Akbulut *et al.*, 2009)، میزان ۵۰/۸۸± mg/100g GAE ۷۸۹/۳۲ را برای میزان فنل کل میوه تازه زرشک *B. vulgaris* ترکیه گزارش کردند. شریفی و پوراکبر (Sharifi and Poorakbar, 2015) میزان ترکیبات فنلی بر حسب اسید گالیک را در زرشک تازه (*Berberis integerrima*) ۰/۴۹۵۳ ± ۲/۵۵۳ mg/g FW و در زرشک خشک ۰/۸۳۴۸ ± ۵۹/۵۷۶ mg/g DW بیان کردند و نشان دادند که زرشک تر نسبت به خشک فنل کمتری دارد. این پژوهشگران، میزان ترکیبات فنلی را در عصاره اتانولی زرشک خشک ۳/۱۳۰۴ ± ۵۱/۴۸۵ و در زرشک تازه ۰ ± ۲۳/۸۲۴ میلی‌گرم اسید گالیک در گرم عصاره گزارش کردند (Sharifi and Poorakbar, 2015). در میان کدژنوتیپ‌های موردررر بررسی، کدژنوتیپ ۲-۱۴ با میزان ۸۳۷/۵۳ میلی گرم کوئرستین در یکصد گرم میوه خشک حائز بیش‌ترین میزان فلاونوئید کل بود. کم‌ترین میزان فلاونوئید با ۲۱۹/۷۲، به کدژنوتیپ ۱-۱۳ اختصاص یافت و زرشک بی‌دانه با میزان فلاونوئید ۴۹۲/۵۶ میلی گرم کوئرستین در یکصد گرم میوه خشک در حد وسط قرار گرفت. کدژنوتیپ ۲-۱۴ با رنگ آبی تیره، دارای بیش‌ترین میزان آنتوسیانین کل ۴۵۲/۰۶ میلی‌گرم سیانیدین۳ گلیکوزید در یکصد گرم میوه خشک بود و کدژنوتیپ ۲-۲ با رنگ نارنجی، از کم‌ترین میزان آنتوسیانین کل با ۳۵/۹۶ میلی گرم سیانیدین۳ گلیکوزید در یکصد گرم میوه خشک برخوردار بود. حسن پور و علیزاده (۲۰۱۶) میزان آنتوسیانین ژنوتیپ‌های وحشی بومی را بین ۱۶/۳۲ تا ۹۱/۶۶ میلی‌گرم در صد گرم وزن تر و میزان فلاونوئید کل را بین ۱۳۲/۶۶ و ۲۸۰ میلی‌گرم در صد گرم وزن تر اعلام کردند که با توجه به شاخص برداشت ۱/۵ در زرشک می‌توان اظهار نمود

مقادیر آنتوسیانین و فلاونوئید کل در پژوهش حاضر با محدوده گزارش شده توسط این پژوهشگران مطابقت دارد (Hassanpour and Alizadeh, 2016). نتایج نشان داد کدژنوتیپ‌های ۲-۱۴ و ۱-۱۱ (۴۰۸/۲۹ میلی‌گرم در صد گرم) با توجه به میزان آنتوسیانین کل بالا، از پتانسیل مناسبی جهت تهیه رنگ‌های خوراکی برخوردارند و می‌توان از آن‌ها به عنوان رنگ سالم طبیعی به جای رنگ‌های زیانبار شیمیایی در صنایع غذایی استفاده کرد. آنتوسیانین‌ها علاوه بر خصوصیت رنگ‌دهندگی اثر درمانی نیز دارند، این ترکیبات، دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند که برای بسیاری از سیستم‌های بدن نقش حفاظتی دارند و به پیشگیری از بیماری سرطان نیز کمک می‌کنند (Behrad *et al*., 2022).

فیبرخام، پروتئین و قند کل

نتایج جدول ۲ حاکی از وجود اختلاف معنی دار در سطح احتمال یک درصد در بین کدژنوتیپ های زرشک از لحاظ میزان پروتئین، قند کل و فیبر می‌باشد. طبق شکل ۳، کدژنوتیپ ۲-۱۴ از بالاترین میزان پروتئین (۴/۲۶ درصد) برخوردار بود. بر طبق نتایج، کدژنوتیپ ۲-۵ دارای پایین ترین میزان پروتئین (۲/۷۷ درصد) می باشد. فرهادی چیتگر و همکاران (۲۰۱۴) مقادیر۵/۴۴، ۳/۵۵ و۲/۰۰، درصد را برای میزان پروتئین سه گونه زرشک زرافشانی، زالزالکی و بی‌دانه گزارش نمودند که نتایج پژوهش حاضر با نتایج این پژوهشگران همخوانی دارد (Farhadi Chitgar and Varidi, 2014). میزان قند کل کدژنوتیپ بی‌دانه (۵۹/۶۱ درصد) دو برابر کدژنوتیپ ۳-۵ (۲۵/۶۷ درصد) و بیش از ۱۰ برابر سایر کدژنوتیپ‌ها بود (شکل ۳). این تفاوت در میزان قند با توجه به طعم این کدژنوتیپ‌ها قابل پیش‌بینی بود.

میزان قند کل میوه زرشک در برخی پژوهش‌ها مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج فرهادی چیتگر و همکاران (Farhadi Chitgar and Varidi, 2014) نیز میزان قندهای احیا (روش لین آینون)، را در زرشک بی‌دانه تقریبا دو برابر گونه‌های وحشی نشان داد. در پژوهش ها، میانگین ۶/۱۲، ۸/۸۴ و ۱۴/۹۶ گرم بر میلی‌لیتر به ترتیب برای میزان فروکتوز، گلوکز و قند کل میوه زرشک *B. vulgaris* ترکیه گزارش شده است (Özgen *et al*., 2012). درصد قندهای احیاء میوه گونه *B. vulgaris* ترکیه، ۶/۵۲ درصد و میزان پروتئین آن ۱۰/۳۲ درصد بیان شده است (Akbulut *et al*., 2009). مقایسه میانگین کدژنوتیپ‌ها نشان داد کدژنوتیپ تیره رنگ ۱-۱۰ دارای بیشترین میزان فیبر (۵۴/۹۶ درصد) بود. این کدژنوتیپ دارای درصد پالپ میوه بسیار پایینی است و به نظر می‌رسد که برونبری ضخیم و فیبری، هسته درشت آن را احاطه کرده است. البته تفکیک بخش‌های مختلف فرابر میوه نیازمند بررسی بیشتری است. کدژنوتیپ ۱-۴ دارای کمترین میزان فیبر خام (۶/۲۳ درصد) بودند (شکل ۳). در آزمایش-های فرهادی چیتگر و همکاران (Farhadi Chitgar and Varidi, 2014)، میزان فیبر خام زرشک بر اساس وزن، به ترتیب ۲۰/۳ درصد برای گونه زرافشانی، ۱۹/۵ درصد برای گونه زالزالکی و ۹/۵ درصد برای زرشک بی‌دانه به دست آمد. آوان و همکاران (Awan *et al*., 2014) پس از بررسی میوه تازه سه گونه زرشک، این نتایج را گزارش کردند: در *B. calliobotrys* میزان فیبر خام ۰/۷۳ درصد، در *B. orthobotrys* میزان فیبر خام ۰/۷۸ درصد و در *B. pseudumbellata* میزان فیبر خام ۰/۹۴ درصد بود. درصد سلولز خام زرشک *B. vulgaris*، ۹/۴۲ درصد گزارش شده است (Awan *et al*., 2014).



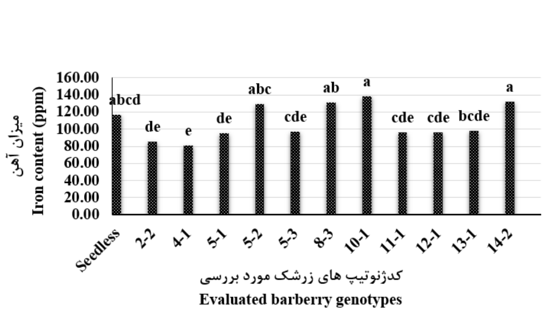
	Seedless	2-2	4-1	5-1	5-2	5-3	8-3	10-1	11-1	12-1	13-1	14-2
Protein- پروتئین	3.41	3.68	3.12	3.00	2.77	3.40	3.44	3.62	3.06	4.11	3.03	4.26
Total sugar- قند کل	59.61	4.05	3.91	5.34	4.25	25.67	3.65	2.77	4.04	3.44	3.23	3.79
Fiber- فیبر	10.04	10.53	6.23	7.97	9.23	8.51	7.24	54.96	7.40	20.20	8.33	14.65

شکل ۳- میزان فیبر خام، قند کل و پروتئین در میوه کدژنوتیپ‌های زرشک مورد بررسی

Figure 3- Crude fiber, total sugar and protein content in fruits of the evaluated barberry code-gentypes
(Tukey, $p \leq 0.05$)

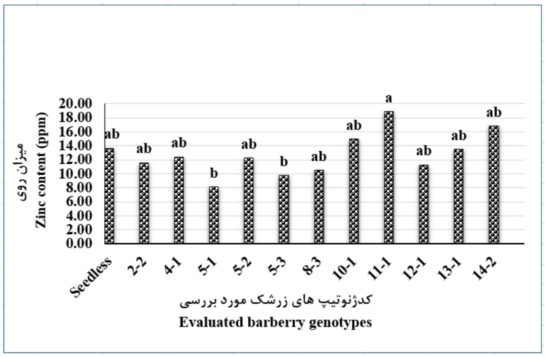
عناصر معدنی

در این پژوهش تفاوت معنی‌داری (در سطح یک درصد) در بین کدژنوتیپ‌ها از نظر میزان عناصر معدنی مشاهده شد (جدول ۲). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که کدژنوتیپ ۱-۱۰ دارای بیشترین میزان آهن (۱۳۸/۴۹ قسمت در میلیون) و منیزیوم (۱۴۲۶/۳۹ قسمت در میلیون) بود و از نظر میزان روی (۱۴/۹۱ قسمت در میلیون) نیز در گروه برترین‌ها قرار گرفت. از لحاظ میزان عنصر مس، کدژنوتیپ ۲-۱۴ با ۶/۸۰ قسمت در میلیون در جایگاه اول قرار گرفت (شکل‌های ۴، ۵، ۶ و ۷).



شکل ٤- میزان آهن در میوه کدژنوتیپ‌های زرشک مورد بررسی

Figure 4- Iron content in fruits of the evaluated barberry code-genotypes
(Tukey, $p\leq0.05$)

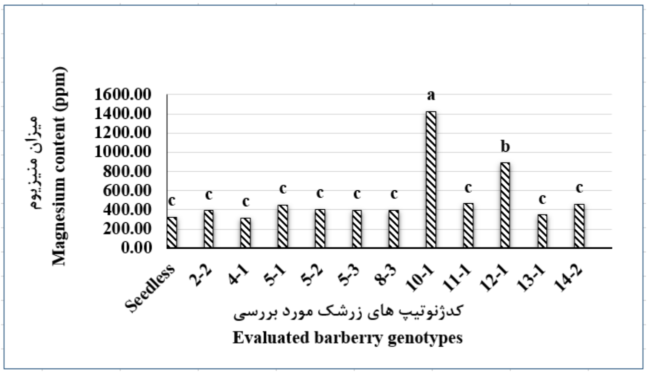


شکل ٥- میزان عنصر روی در میوه کدژنوتیپ‌های زرشک مورد بررسی

Figure 5- Zinc content in fruits of the evaluated barberry code-genotypes
(Tukey, $p\leq0.05$)

رحیمی‌مدیسه و همکاران (Rahimi-Madiseh *et al*., 2017) در بررسی‌های خود بر روی میوه خشک اکوتیپ های متفاوت از دو گونه زرشک؛ (سیاه) *B. khorasanica*، (قرمز) *B. khorasanica* و (سیاه) *B. bakhtiarica*، میزان برخی عناصر معدنی را بدین صورت اعلام کردند: گونه (سیاه) *B. khorasanica* دارای ۰/۰۱۶±۰/۱۹۷ درصد منیزیم، ۴۲/۵۲±۴۶۸/۸۳ میلی‌گرم در کیلوگرم آهن، ۹/۸۷±۷۸/۴۳ میلی‌گرم در کیلوگرم روی، ۳/۴۶±۴۷/۳۷ میلی‌گرم در کیلوگرم مس بود. گونه (سیاه) *B. bakhtiarica* نیز دارای ۰/۰۲۳±۰/۴۷۹ درصد منیزیم، ۲۶/۸۲±۴۱۵/۵۳ میلی‌گرم در کیلوگرم آهن، ۵/۲۷±۵۵/۳۷ میلی‌گرم در کیلوگرم روی، ۳/۰۳±۴۹/۸۴ میلی گرم در کیلوگرم مس بود. همچنین گونه (قرمز) *B. khorasanica* دارای ۰/۰۳۴±۰/۵۴۱درصد منیزیم، ۲۹۰/۵۷±۲۶۵۰/۳۴ میلی‌گرم در کیلوگرم آهن، ۳/۵۲±۲۷/۵۳ میلی‌گرم در کیلوگرم روی، ۲/۶۹±۳۳/۶۷ میلی‌گرم در کیلوگرم مس بود (Rahimi-Madiseh *et al*., 2017). اوزگن و همکاران (Özgen et al., 2012) میزان عناصر معدنی میوه زرشک گونه *B. vulgaris* ترکیه را به صورت زیر بر اساس قسمت در میلیون گزارش کردند: (آهن،۳۲۳ قسمت در میلیون)، (منیزیوم، ۱۱۹۳ قسمت در میلیون)، (روی، ۷/۹۵ قسمت در میلیون) و (مس، ۴/۷۵ قسمت در میلیون). اندولا و همکاران (Andola *et al*., 2011) نیز میزان منیزیوم، روی و مس را برای گونه زرشک *B. asiatica* ۱/۱، ۱/۱ و ۱/۶۷ میکروگرم بر گرم؛ برای گونه *B. aristata*، ۱/۴، ۴/۸ و ۱/۳۵ میکروگرم بر گرم و برای گونه

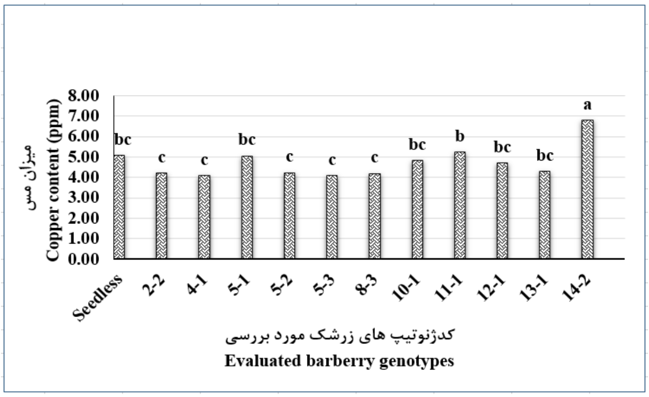
B. lyceum، ۳/۴، ۴/۵ و ۷/۲ میکروگرم بر گرم محاسبه کردند. اختلاف در جذب عناصر غذایی و توزیع آنها در بخش‌های مختلف گیاهان بستگی به خصوصیات ژنتیکی گیاه دارد. چنین اختلافاتی در پایه‌های مختلف درختان میوه و سبزی‌ها گزارش شده است (Andola *et al*., 2011).



شکل ٦- میزان منیزیوم در میوه کدژنوتیپ‌های زرشک مورد بررسی

Figure 6- Magnesium content in fruits of the evaluated barberry code-genotypes

(Tukey, $p \leq 0.05$)



شکل ۷- میزان مس در میوه کدژنوتیپ‌های زرشک مورد بررسی

Figure 7- Copper content in fruits of the evaluated barberry code-genotypes

(Tukey, $p \leq 0.05$)

تفاوت میزان عناصر معدنی ژنوتیپ‌های بررسی شده در پژوهش حاضر با سایر ژنوتیپ‌های وحشی بررسی شده توسط سایر پژوهشگران به این دلیل می‌باشد که اندازه‌گیری عناصر معدنی در این پژوهش فقط در پالپ میوه صورت گرفته است در صورتی که سایر پژوهش‌ها میوه کامل (بذر و پالپ) را بررسی کرده‌اند. پژوهش‌ها نشان داده است که بذر زرشک به تنهایی دارای عناصر معدنی می‌باشد (Farhadi Chitgar and Varidi, 2014; Andola *et al*., 2011; Mazzuca *et al*., 2005; Halimi *et al*., 2011).

نتیجه‌گیری

زرشک بی‌دانه تاکنون عمدتاً به عنوان چاشنی غذایی مورد استفاده بوده و به صورت محدود در صنایع تبدیلی استفاده شده است، با انجام پژوهش حاضر و مشخص شدن خصوصیات بیوشیمیایی ژنوتیپ‌های دانه‌دار و بی‌دانه، پیشنهاد می‌گردد مطالعه‌ای جامع برای تعیین کاربردهای غذایی و دارویی زرشک‌های بومی انجام و قابلیت-های این محصول ارزشمند ملی، مورد بهره برداری بهینه قرار گیرد. در ارزیابی کلی بین دوازده ژنوتیپ زرشک مورد بررسی، کدژنوتیپ ۲-۱۴ به دلیل دارا بودن بالاترین میزان فلاونوئید کل، آنتوسیانین کل، پروتئین و مس ژنوتیپ برتر بود و می‌تواند از نظر تکثیر و کشت آزمایشی در مناطق مناسب مورد توجه قرار گیرد. میوه کدژنوتیپ ۱-۱۰ علی‌رغم برخورداری از هسته‌های درشت و نسبت کم بخش خوراکی به هسته، دارای عناصر معدنی و فیبر بالایی بود لذا بررسی بیشتر ترکیبات مغذی و روغن هسته آن پیشنهاد می‌گردد. با توجه به اینکه ایران یکی از رویشگاه‌های مهم گونه‌ها و دورگه‌های مختلف

زرشک است و نوع بی‌دانه آن به عنوان یک محصول ملی محسوب می‌شود، کسب دانش فنی در مورد زرشک‌های بومی و تهیه فرآورده های غذایی از این محصول ارزشمند کشورمان می‌تواند به عنوان یک فناوری جدید، سبب توسعه اقتصادی در مناطق تولید زرشک گردد.

سپاسگزاری

این مقاله مستخرج از طرح پژوهشی مصوب صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور با عنوان «بررسی ترکیبات زیست‌فعال و خصوصیات تغذیه‌ای دارویی زرشک‌های بومی ایران با هدف تعیین کاربردهای مناسب آن‌ها» با کد ۹۳۰۵۱۱۷۲ می‌باشد که با حمایت موسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی اجرا شده است.

منابع

1. Akbulut, M., Çalisir, S., Marakoglu, T., & Coklar, H. (2009). Some physicomechanical and nutritional properties of barberry (Berberis vulgaris L.) fruits. *Journal of Food Process Engineering*, *32*(4), 497-511. https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1745-4530.2007.00229.x
2. Alizadeh, H.-R., Mortezapour, H., Akhavan, H.-R., & Balvardi, M. (2021). Physicochemical changes of barberry juice concentrated by liquid desiccant-assisted solar system and conventional methods during the evaporation process. *Journal of Food Science and Technology*, *58*, 4370-4381. https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s13197-020-04919-z
3. Andola, H.C., Rawal, R.S., & Bhatt, I.D. (2011). Comparative studies on the nutritive and anti-nutritive properties of fruits in selected Berberis species of West Himalaya, India. *Food Research International*, *44*(7), 2352-2356. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.07.017
4. AOAC. (2005). *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists* (Vol. 2). Association of Official Analytical Chemists.
5. Ardestani, S.B., Sahari, M.A., Barzegar, M., & Abbasi, S. (2013). Some physicochemical properties of Iranian native barberry fruits (abi and poloei): *Berberis integerrima* and *Berberis vulgaris*. *2013*, *1*(3). https://doi.org/10.14499/jfps
6. Awan, M. S., Ali, S., Ali, A., Hussain, A., & Ali, M. (2014). A comparative study of barberry fruits in terms of its nutritive and medicinal contents from CKNP region, Gilgit-Baltistan, Pakistan. *Journal Biodiversity Environment Science 5*, 9-17.
7. Bandaru, H., & Bakshi, M. (2020). Fruit Leather: Preparation, packaging and its effect on sensorial and physico-chemical properties: A review. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, *9*(6), 1699-1709. https://doi.org/https://doi.org/10.22271/phyto.2020.v9.i6y.13192
8. Behrad, Z., Sefidkon, F., Ghasemzadeh, H., Rezadoost, H., & Balandary, A. (2022). Determination of phenolic compounds and antioxidant activities of 55 Iranian Berberis genotypes. *Journal of Medicinal Plants and By-Product*. https://doi.org/https://doi.org/10.22092/jmpb.2022.356303.1413
9. Farhadi Chitgar, M., & Varidi, M. (2014). Evaluation of physical and chemical characteristics of three Iranian barberry. *Journal of Food Research (University of Tabriz)*, *21*, 63-76. (In Persian with English abstract)
10. Farhadi Chitgar, M., Varidi, M., Varidi, M.J., & Balandari, A. (2016). Comparative study on some physical and chemical properties of three native seed berberis genotypes from Semnan province. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, *12*(2), 250-260. (In Persian with English abstract). https://www.magiran.com/paper/1596946
11. Gulsoy, S., Ozkan, G., & Ozkan, K. (2011). Mineral elements, phenolics and organic acids of leaves and fruits from *Berberis crataegina* DC. *Asian Journal of Chemistry*, *23*(7), 3071.
12. Halimi, M., Vahedi, H., Lari, J., & Nasrabadi, M. (2011). Chemical composition of n-hexane extract of the fruit from bereberise integrrima of Iran. *Der Pharmacia Sinica*, *2*(2), 27-30.
13. Hassanpour, H., & Alizadeh, S. (2016). Evaluation of phenolic compound, antioxidant activities and antioxidant enzymes of barberry genotypes in Iran. *Scientia Horticulturae*, *200*, 125-130. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.01.015
14. Jiménez, C.D.C., Flores, C.S., He, J., Tian, Q., Schwartz, S.J., & Giusti, M.M. (2011). Characterisation and preliminary bioactivity determination of *Berberis boliviana* Lechler fruit anthocyanins. *Food Chemistry*, *128*(3), 717-724. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.03.094
15. Kafi, M., & Balendari, A. (2002). *Berberis: Production and Processing*. Language and Literature. (In Persian)

16. Khojastehmanesh, S., & Shahdadi, F. (2022). The effect of drying method on the qualitative and microbial properties of barberry leather. *Journal of Food Science and Technology (Iran)*, *19*(128), 161-170. (In Persian with English abstract). https://doi.org/http://dx.doi.org/10.22034/FSCT.19.128.161
17. Mazzuca, M., Miscoria, S., Rost, E., & Balzaretti, V. (2005). *Fatty Acids and sterols in seeds from wild species of Berberis in Argentine Patagonia* Anales de la Asociacion Quimica Argentina,
18. McCready, R., Guggolz, J., Silviera, V., & Owens, H. (1950). Determination of starch and amylose in vegetables. *Analytical Chemistry*, *22*(9), 1156-1158. https://doi.org/https://doi.org/10.1021/ac60045a016
19. Özgen, M., Saraçoğlu, O., & Geçer, E.N. (2012). Antioxidant capacity and chemical properties of selected barberry (*Berberis vulgaris* L.) fruits. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, *53*, 447-451. https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s13580-012-0711-1
20. Pantelidis, G.E., Vasilakakis, M., Manganaris, G.A., & Diamantidis, G. (2007). Antioxidant capacity, phenol, anthocyanin and ascorbic acid contents in raspberries, blackberries, red currants, gooseberries and Cornelian cherries. *Food Chemistry*, *102*(3), 777-783. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.06.021
21. Pękal, A., & Pyrzynska, K. (2014). Evaluation of aluminium complexation reaction for flavonoid content assay. *Food Analytical Methods*, *7*, 1776-1782.
22. 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. https://doi.org/https://doi.org/10.22067/jhs.2021.68493.1018
23. Rahimi-Madiseh, M., Lorigoini, Z., Zamani-Gharaghoshi, H., & Rafieian-Kopaei, M. (2017). *Berberis vulgaris*: specifications and traditional uses. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, *20*(5), 569. https://doi.org/https://doi.org/10.22038%2FIJBMS.2017.8690
24. Rezaei, M., & Balandari, A. (2015). Study of seed set in crossing among seedless barberry and wild type barberry genotypes. *Iranian Journal of Horticultural Science*, *46*(2), 323-331. https://doi.org/10.22059/ijhs.2015.54628
25. Ruiz, A., Hermosin-Gutierrez, I., Mardones, C., Vergara, C., Herlitz, E., Vega, M., Dorau, C., Winterhalter, P., & von Baer, D. (2010). Polyphenols and antioxidant activity of calafate (*Berberis microphylla*) fruits and other native berries from Southern Chile. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *58*(10), 6081-6089. https://doi.org/https://doi.org/10.1021/jf100173x
26. Sharifi, F., & Poorakbar, L. (2015). The survey of antioxidant properties of phenolic compounds in fresh and dry hybrid Barberry fruits (*Berberis integerrima*× *vulgaris*). *Cumhuriyet Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Fen Bilimleri Dergisi*, *36*(3), 1609-1617.
27. Sood, P., Modgil, R., & Sood, M. (2010). Physico-chemical and nutritional evaluation of indigenous wild fruit Kasmal, *Berberis lycium* Royle. https://doi.org/http://nopr.niscpr.res.in/handle/123456789/10282
28. Vattem, D. A., & Shetty, K. (2003). Ellagic acid production and phenolic antioxidant activity in cranberry pomace (*Vaccinium macrocarpon*) mediated by *Lentinus edodes* using a solid-state system. *Process Biochemistry*, *39*(3), 367-379. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0032-9592(03)00089-X
29. Yang, L., Gou, Y., Zhao, T., Zhao, J., Li, F., Zhang, B., & Wu, X. (2012). Antioxidant capacity of extracts from calyx fruits of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). *African Journal of Biotechnology*, *11*(17), 4063-4068. https://doi.org/https://doi.org/10.5897/AJB11.2227

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

CC BY

Research Article
Vol. 37, No. 2, Summer 2023, p. 307-324

A Study on Effects of Chemical Fertilizer and Organic Manures on Kiwifruit (*Actinidia deliciosa*, cv. Hayward) Quality during Cold Storage

M. Kiaeshkevarian[1]*, T. Raiesi[2], B. Moradi[3], J. Fattahi Moghadam[4]- M. Faghih Nasiri[5]

Received: 23-05-2021
Revised: 28-12-2022
Accepted: 31-12-2022
Available Online: 31-12-2022

How to cite this article:
Kiaeshkevarian, M., Raiesi, T., Moradi, B., Fattahi Moghadam, J., & Faghih Nasiri, M. (2023). A study on effects of chemical fertilizer and organic manures on kiwifruit (*Actinidia deliciosa*, cv. Hayward) quality during cold storage. *Journal of Horticultural Science*, *37*(2), 307-324. (In Persian with English abstract). http://doi.org/10.22067/jhs.2022.70366.1054

Introduction

Consumers demand for organic products is increasing due to their awareness of health and nutritional quality. Organic manures maintain soil health and ecological balance of the region. Organic agriculture, as an alternative agricultural system to protect human health and the environment can improve the quality and storability of the product. Kiwifruit is one of the most important agricultural products in north of Iran, which plays an effective role in trade and employment of the people. Fertilization is one of the main factors affecting the yield and quality of kiwifruit. Growers use organic manures and chemical fertilizers in their orchard to achieve higher yields. It is necessary to study the effect of various organic manures available in the region on the nutrition of kiwifruit vines due to increase chemical fertilizer prices and the formation of the market for organic fruits. Therefore, the aim of this study was to compare the effect of using five types of organic manures and chemical fertilizer on the quality of Hayward kiwi fruit during cold storage.

Materials and Methods

This research was conducted as randomized complete block design consisting six treatments (including complete chemical fertilizer, sheep manure, cow manure, chicken manure, vermicompost and azolla) on Hayward kiwifruit vines in orchard and factorial experiment with three replicates in cold storage during four years. The fruits were harvested at TSS: 6.5 (approximately mid-November) and then stored at 0.5 ° C and 90% RH for three months. Sampling was performed every month and physicochemical characteristics, including flesh color parameters (L*, C*, h◦), total soluble solids, titratable acidity, firmness and weight loss of fruit were measured. Sensory evaluation of fruits was also performed at the end of three months cold storage. Analysis of variance of the data was done using SAS 9.1 software. The significance of differences between the mean of treatments was determined by using Duncan's test.

Results and Discussion

The results showed the interaction between year, type of nutrition and cold storage period affected color indices, lightness and chroma. Lightness and chroma value didn't show significant differences between organic and chemical fertilizer treatments. In addition, their value decreased during cold storage period, significantly. The chroma value indicates the degree of saturation of the green color and is associated with fruit firmness. The hue value was also influenced by the interaction between year and cold storage period and the simple effect of

1, 2, 3, 4 and 5- Researcher, Assistant Professors, Associate Professor and Instructor in Citrus and Subtropical Fruits Research Center, Horticultural Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Ramsar, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: mkiacitrus@yahoo.com)
DOI: 10.22067/jhs.2022.70366.1054

the nutrition type. The highest hue value was observed in chicken manure (108.63) and the lowest in vermicompost (107.66). The hue value decreased significantly after 90 days cold storage. According to the results, a decrease in fruit firmness, TA and an increase in TSS and TSS/TA were observed during cold storage irrespective of treatments. After 90 days, total soluble solids content was higher when organic fertilizers were applied. During the storage of kiwifruit, total soluble solids content increased, significantly. The titratable acidity value in organic fertilizer treatments was higher than chemical fertilizer after 90 days cold storage, significantly. Moreover, titratable acidity value decreased at the end of the cold storage period, significantly. The highest flesh fruit firmness was obtained in cow manure (8.74 kg/cm2) in forth year and chemical fertilizer treatment had the lowest flesh firmness (3.2 kg/cm2) in third year. Fruit lost firmness gradually during the cold storage period. However, no significant difference was found in maturity index (TSS/TA) between treatments. The TSS:TA ratio is highly increased after 90 days. Based on the results of the last two years, azolla, cow and chicken manures showed less weight loss percentage than chemical fertilizer treatment. Moreover, weight loss increased significantly during cold storage period in all treatments and years. Also the results of sensory analysis showed that fruits treated with vermicompost had a higher overall acceptance than other treatments.

Conclusion

Generally, organic nutrition plays an important role in increasing the nutritional value and shelf life of kiwifruit cv.Hayward. Organically produced fruits had higher firmness than conventionally grown fruits during storage. Application of cow manure and vermicompost showed favorable effects on important properties of kiwi fruit such as firmness, weight loss, TSS, TA and sensory quality. Therefore, organic fruits will have better quality in the cold storage. As a result, it seems that by reducing the use of chemical fertilizers in the current orchards, kiwi production will be close to the standards defined for organic fruit.

Keywords: Organic manure, Panel test, Physicochemical properties, Vermicompost

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

مقاله پژوهشی
جلد ۳۷، شماره ۲، تابستان ۱٤۰۲، ص. ۳۲٤-۳۰۷

بررسی تاثیر کودهای آلی و شیمیایی بر کیفیت میوه کیوی رقم 'هایوارد' طی نگهداری در سردخانه

معصومه کیاشکوریان[1*] - طاهره رئیسی[2] - بیژن مرادی[3] - جواد فتاحی مقدم[4] - مازیار فقیه نصیری[5]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۳/۰۲
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۱۰/۰۷
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۱۰

چکیده

تقاضای مصرف کنندگان برای محصولات ارگانیک به‌علت آگاهی از سلامت و کیفیت غذایی آن‌ها رو به افزایش است. کودهای آلی سلامت خاک و تعادل اکولوژیکی منطقه را حفظ می‌کنند. کشاورزی ارگانیک، به‌عنوان یک سیستم کشاورزی جایگزین برای محافظت از سلامت انسان و محیط زیست می‌تواند کیفیت و ماندگاری محصول را بهبود بخشد. کیوی‌فروت یکی از محصولات مهم کشاورزی در شمال ایران است که در مبادلات تجاری و اشتغال مردم منطقه نقش مؤثری دارد. مطالعه اثر انواع کودهای آلی قابل دسترس در شمال کشور در تغذیه تاک‌های کیوی‌فروت به‌علت گران شدن کودهای شیمیایی و شکل‌گیری بازار مصرف میوه‌های ارگانیک ضروری است. بنابراین تحقیق حاضر با هدف مقایسه تاثیر کاربرد پنج نوع کود آلی و کود شیمیایی بر کیفیت میوه کیوی رقم 'هایوارد' طی نگهداری در سردخانه انجام شد. این پژوهش در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با شش تیمار (شامل کود شیمیایی، کود گوسفندی، کود گاوی، کود مرغی، ورمی‌کمپوست و آزولا) و سه تکرار روی تاک‌های کیوی‌فروت رقم 'هایوارد' طی چهار سال اجرا شد. میوه‌های هر یک از تیمارها بعد از رسیدن مقدار مواد جامد محلول کل میوه (TSS) به حد مناسب ۶/۵ (تقریباً اواسط آبان) برداشت و در سردخانه با دمای ۰/۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۹۰ درصد قرار داده شدند. نمونه‌برداری از میوه‌ها در زمان برداشت و با فواصل ۳۰ روز پس از انتقال به سردخانه انجام و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی شامل رنگ گوشت میوه، مواد جامد محلول، اسیدیته، سفتی بافت میوه و کاهش وزن میوه اندازه‌گیری شد. هم‌چنین در پایان سه ماه نگهداری میوه‌های در سردخانه ارزیابی حسی میوه‌ها انجام گردید. نتایج نشان داد مقدار مواد جامد محلول کل و اسیدیته کل در میوه‌های تغذیه شده با کودهای آلی بیشتر از کود شیمیایی بود. بیشترین سفتی گوشت میوه در تغذیه با کود گاوی در سال چهارم با میانگین ۸/۷۴ و کمترین مقدار در تغذیه با کود شیمیایی با ۳/۲ کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع بدست آمد. میزان سفتی میوه‌ها طی نگهداری در سردخانه روند کاهشی معنی‌داری را نشان داد. نسبت مواد جامد محلول به اسیدیته طی انبارداری به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. هم‌چنین نتایج آنالیز حسی نشان داد میوه‌های تولید شده با کاربرد ورمی‌کمپوست از پذیرش کلی بیشتر نسبت به سایر تیمارهای کوددهی برخوردار بودند. به‌طور کلی استفاده از کودهای آلی گاوی و ورمی‌کمپوست اثر مطلوبی را بر ویژگی‌های مهم میوه کیوی چون مقدار سفتی، کاهش وزن، مواد جامد محلول، اسیدیته و کیفیت حسی نشان داد. بنابراین چنین میوه‌هایی کیفیت انبارداری بهتری را در سردخانه خواهند داشت. در نتیجه به‌نظر می‌رسد با کاهش مصرف کودهای شیمیایی در باغ‌های کنونی، تولید کیوی به استانداردهای تعریف شده برای میوه ارگانیک بسیار نزدیک خواهد شد.

واژه‌های کلیدی: تست پنل، کود دامی، ورمی‌کمپوست، ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی

۱، ۲، ۳، ۴ و ۵- به‌ترتیب محقق و اعضای هیات علمی، پژوهشکده مرکبات و میوه‌های نیمه‌گرمسیری، موسسه علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رامسر، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: mkiacitrus@yahoo.com)

DOI: 10.22067/jhs.2022.70366.1054

مقدمه

در سال‌های اخیر تولید میوه‌ها و سایر محصولات کشاورزی ارگانیک در کاهش هزینه‌های تولید و مشکلات زیست محیطی موفق بوده است. تقاضا برای محصولات غذایی ارگانیک به‌دلیل آگاهی مصرف‌کنندگان از ایمنی، سلامت و کیفیت غذایی و حسی بالاتر آن ها و نگرانی از مصرف محصولات کشت متعارف دارای باقیمانده سموم و مواد شیمیایی روبه افزایش است. در نتیجه این افزایش تقاضا، سهم کشت ارگانیک تقریباً با ۷۱/۵ میلیون هکتار که ۱/۵ درصد از زمین‌های کشاورزی جهان را در بر می‌گیرد در بازارهای جهانی با رشد سریعی همراه است. سطح زیرکشت محصولات ارگانیک در ایران ۱۱۹۱۶ هکتار و رتبه ۱۸ را در آسیا دارد (Willer and Lernoud, 2020). براساس آمار منتشر شده‌ی فائو در سال ۲۰۲۰ تولید جهانی کیوی بالغ بر ۴۴۰۷۴۰۷ تن و عملکرد آن ۱۶۲۹۶۱ کیلوگرم در هکتار است. چین، نیوزیلند، ایتالیا، یونان، ایران و شیلی به‌ترتیب بزرگترین تولیدکننده کیوی در جهان محسوب می شوند (FAO, 2020). در ایران سطح زیرکشت این محصول ۱۵۲۱۱ هکتار (سطح بارور ۱۴۸۳۶ هکتار)، مقدار تولید ۴۴۲۰۴۰ تن در سال ۱۴۰۰ گزارش شده است (Agricultural Statistics, 2021).

در سیستم ارگانیک از روش‌هایی از جمله افزودن مواد آلی به خاک که به آرامی عناصر غذایی را آزاد می‌کنند، برای نگهداشت حاصلخیزی خاک استفاده می‌شود (Whortington., 2001). در تعدادی مطالعه اختلاف ویژگی‌های کیفی بین میوه‌های تولید شده تحت سیستم ارگانیک و متداول بررسی شده است (Amarante *et al*., 2008; Khalil *et al*., 2015; Zahedipour *et al*., 2019). در تحقیقات دیگری نیز عمر انبارمانی و کیفیت میوه‌های تازه تولید شده در سیستم ارگانیک در برابر میوه تولید شده در سیستم متداول مورد مطالعه قرار گرفته که در این میان سیب بیش از سایر میوه‌ها مورد توجه بوده است (Amodio *et al*., Weibel *et al*., 2000; 2007). خلاصه نتایج این مطالعات نشان داد که میوه‌های ارگانیک و متداول در وقوع برهم خوردگی‌های فیزیولوژیک، مقدار مواد جامد محلول، سفتی و محتوای معدنی با یکدیگر متفاوت بودند.

کیوی‌فروت (*Actinidia deliciosa*) گیاه نیمه‌گرمسیری از خانواده Actinidiaceae و مبدا آن جنوب غربی چین است. در سال‌های اخیر تولید میوه کیوی افزایش یافته به‌طوری که از نظر تولید جهانی پس از موز، پرتقال و سیب در رتبه چهارم قرار گرفته است. سطح زیرکشت این محصول در ایران در دهه اخیر افزایش یافته و در حال حاضر یکی از محصولات مهم کشاورزی در شمال ایران است. تولید این محصول در شمال ایران از اهمیت به سزائی برخوردار بوده و یکی از منابع مهم تولید است که در مبادلات تجاری و اشتغال مردم نقش مؤثری دارد.

کیفیت و کمیت میوه تولیدی کیوی‌فروت به عوامل متعددی بستگی دارد. یکی از مهم‌ترین فاکتورهای که در کمیت و کیفیت کیوی‌فروت مؤثر می‌باشد کوددهی است. باغداران از کودهای آلی و شیمیایی در باغ‌های خود برای دستیابی به عملکرد بالاتر استفاده می کنند. در تعدادی مطالعه کیفیت میوه کیوی در زمان برداشت و طی نگهداری در سردخانه در دو سیستم کشت ارگانیک و متداول در جهان بررسی شده است (Amodio *et al*., 2007; Benge *et al*., 2000; D'evoli *et al*., 2013). برای مثال در تحقیقی پس از تبدیل سیستم کشت متداول به سیستم کشت ارگانیک مشاهده شد که سفتی بافت میوه کیوی‌های تولید شده در سیستم ارگانیک در مقایسه با میوه‌های سیستم کشت متداول بیشتر بود (Hasey *et al*., 1997). هم‌چنین، بررسی نتایج تحقیقی که در نیوزلند انجام شده نشان داد که در زمان برداشت علیرغم مشابه بودن سفتی بافت میوه‌های ارگانیک و کشت متداول ولی میوه‌های تولید شده در سیستم کشت متداول دارای مواد جامد محلول بیشتری بودند ولی سفتی، نرم شدن بافت میوه و فساد میوه بین دو سیستم کشت متفاوت نبود (Benge *et al*., 2000).

با توجه به مباحث عنوان شده، مطالعه اثر انواع کودهای آلی قابل دسترس در شمال کشور در تغذیه تاک‌های کیوی‌فروت به‌علت گران شدن کودهای شیمیایی و شکل‌گیری بازار مصرف میوه های ارگانیک ضروری است. کشت و تولید کیوی‌فروت در بسیاری از باغ‌های تحت کشت این محصول در ایران تقریباً بدون مصرف سموم شیمیایی ولی با کاربرد کودهای شیمیایی انجام می‌شود (Moradi *et al*., 2019). چنانچه مصرف کودهای شیمیایی در باغ‌های کیوی‌فروت با جایگزینی تدریجی کودهای آلی کاهش یابد، میوه تولیدی به استانداردهای میوه ارگانیک نزدیک خواهد شد. بنابراین تحقیق حاضر با هدف مقایسه تاثیر کاربرد پنج نوع کود آلی و کود شیمیایی بر کیفیت میوه کیوی رقم 'هایوارد' طی نگهداری در سردخانه طی چهار سال در پژوهشکده مرکبات و میوه‌های نیمه‌گرمسیری اجرا شد.

مواد و روش‌ها

به منظور ارزیابی اثر چهار سال کاربرد پنج نوع کود آلی قابل دسترس در شمال کشور و مقایسه اثر آن‌ها با تاثیر کود شیمیایی بر ویژگی‌های کمی و کیفی میوه کیوی طی سه ماه نگهداری در سردخانه، این تحقیق در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با شش تیمار در سه تکرار در باغ کیوی‌فروت ۱۵ ساله (*A. deliciosa* var. Hayward) رقم 'هایوارد' در پژوهشکده مرکبات و میوه‌های نیمه‌گرمسیری رامسر در سال‌های ۱۳۹۷-۱۳۹۲ اجرا شد (هر درخت

به‌عنوان یک واحد آزمایشی در نظر گرفته شد).

در بهمن ۱۳۹۲ قبل از شروع آزمایش‌ها و اعمال تیمارهای محلول‌پاشی نمونه اولیه خاک از سایه‌انداز درختان کیوی‌فروت و از فاصله ۶۰–۵۰ سانتی‌متری از تنه درختان و از عمق‌های ۳۰- ۰ و ۶۰-۳۰ سانتی‌متری تهیه و پس از آماده‌سازی، برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش طبق روش‌های متداول (Hassanzade Naranjboni *et al.*, 2018) تعیین شد. بافت خاک این باغ در عمق ۳۰ سانتی‌متری لومی و در عمق ۳۰ تا ۶۰ سانتی‌متری لوم رسی بود. هم‌چنین خاک این باغ غیرشور (۱۸۵ میکروموس بر سانتی‌متر) و دارای کربن آلی متوسط (۱/۹ درصد) بود. مقدار فسفر و پتاسیم قابل استفاده در عمق ۳۰ سانتی‌متری به‌ترتیب ۴۱ و ۱۱۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک و در عمق ۳۰ الی ۶۰ سانتی‌متری ۲۳ و ۹۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک بود.

در تحقیق حاضر تاثیر کود شیمیایی کامل و پنج نوع کود آلی بر کیفیت میوه کیوی بررسی شد. بدین منظور در فروردین سال‌های ۱۳۹۲ الی ۱۳۹۵ کود شیمیایی (شامل اوره ۱ کیلوگرم بصورت تقسیط در سه نوبت، دی آمونیوم فسفات ۰/۵ کیلوگرم، کلرور پتاسیم ۱ کیلوگرم، سولفات منیزیم ۰/۵کیلوگرم، سولفات روی و سولفات منگنز هرکدام ۲۰۰ گرم) و کودهای آلی شامل آزولا (۳۰ کیلوگرم)، ورمی-کمپوست (۴۴ کیلوگرم)، گاوی (۴۰ کیلوگرم)، مرغی (۱۸ کیلوگرم) و گوسفندی (۳۶ کیلوگرم) پوسیده در سایه انداز درخت با فوکا زدن با خاک سطحی مخلوط گردید. لازم به ذکر است مقادیر مورد استفاده از هریک از کودهای آلی ذکر شده بر اساس مقدار نیتروژن موجود در این کودها محاسبه شد. کنترل علف‌های هرز باغ به صورت مکانیکی طی چندین مرحله توسط دستگاه علف‌زن موتوری و نیز آبیاری قطره‌ای از اواسط اردیبهشت تا اواسط مهرماه براساس نیاز آبی گیاهان انجام شد. پس از اینکه مقدار مواد جامد محلول (TSS) میوه به حد مناسب (بریکس حداقل ۶/۵) رسید، میوه‌ها برداشت شدند. بدین منظور از هر درخت ۳۵ عدد میوه سالم و یکسان برداشت و در داخل سبدهای پلاستیکی و بدون پوشش قرار داده شد و جهت نگهداری به سردخانه با دمای ۰/۵درجه سانتی‌گراد با رطوبت تقریبی ۹۰ درصد انتقال داده شد. لازم به ذکر است از آنجا که تیمارها در سه تکرار انجام گرفتند، برای هر تیمار سه سبد میوه (هر سبد شامل ۳۵ میوه) به سردخانه منتقل شد. میوه‌های در زمان برداشت و پس از انتقال به سردخانه بعد از مدت ۳۰، ۶۰، ۹۰ روز مورد ارزیابی قرار داده شدند. ویژگی‌هایی مانند مقدار وزن میوه، رنگ گوشت میوه، سفتی بافت میوه، مواد جامد محلول، اسیدیته قابل تیتراسیون، نسبت مواد جامد محلول به اسیدیته قابل تیتراسیون و درصد کاهش وزن میوه در زمان های ذکر شده اندازه‌گیری شد.

رنگ گوشت میوه پس از برشی ۱ میلی‌متری به وسیله تیغه بر روی پوست و به وسیله دستگاه کرومومتر مدل CR-400-Minolta ساخت ژاپن اندازه‌گیری شد. در این روش مقادیر L^* (درخشندگی)، h (زاویه رنگ) و C^* (کروما) به‌طور مستقیم توسط دستگاه قرائت شد. سفتی بافت میوه با دستگاه پنترومتر مدلFT011 با پروب هشت میلی متری اندازه‌گیری شد (Feng *et al.*, 2003). واحد فشار وارده جهت نفوذ پروب در بافت میوه بر حسب کیلوگرم بر سانتی‌مترمربع بیان شد. مواد جامد محلول به روش رفرکتومتر چشمی و اسیدیته قابل تیتراسیون با سود ۰/۱ نرمال (AOAC, 1998) اندازه‌گیری شد. هم چنین، در انتهای نگهداری کیوی در سردخانه (بعد از ۹۰ روز) ارزیابی حسی[1] انجام شد. میوه‌های هر تکرار توسط ۳ ارزیاب مورد بررسی قرار گرفت و برداشت حسی، دیداری و چشایی آن‌ها در پرسش‌نامه‌ای ثبت شد. در این پرسش‌نامه ارزیاب‌ها به ویژگی‌هایی چون خصوصیات ظاهری پوست و گوشت، عطر، طعم، شیرینی، ترشی، تلخی و پذیرش کلی میوه در دامنه ۱ تا ۱۰ نمره دادند. حدود نمره‌ها براساس روش هدونیک به‌صورت ۱= ضعیف، ۵= رضایت‌بخش و ۱۰= عالی بود. در نهایت برای بررسی اثر تیمارهای کودی در ۶ سطح (کود شیمیایی، آزولا، ورمی‌کمپوست، گاوی، مرغی و گوسفندی) و زمان نگهداری در سردخانه در ۴ سطح (زمان برداشت، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ روز) در طی چهار سال مورد مطالعه، تجزیه واریانس مرکب انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن و از طریق نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۱ انجام شدند. داده‌های توصیفی مربوط به ارزیابی حسی با نرم افزار SPSS نسخه ۲۴ محاسبه شد.

نتایج و بحث

ویژگی‌های فیزیکی میوه

نتایج تجزیه واریانس مرکب نشان داد اثر سال، نوع کود مصرفی، زمان نگهداری در سردخانه و برهمکنش آن‌ها بر شاخص‌های رنگ شامل روشنایی و کروما، هم‌چنین بر سفتی بافت میوه، کاهش وزن میوه طی نگهداری در سردخانه معنی‌دار بود (جدول ۱).

شاخص‌های رنگ گوشت میوه: بررسی اثرات متقابل سال، نوع کود مصرفی و مدت نگهداری در سردخانه نشان داد که مقدار روشنایی گوشت میوه بین تیمارهای کود آلی و کود شیمیایی اختلاف معنی‌داری نداشت. علاوه بر این مقدار روشنایی در همه تیمارها و طی نگهداری در سردخانه و سال‌های مختلف روند کاهشی داشت(جدول ۲). مقدار کروما در سردخانه تحت تأثیر سال، مدت انبارداری و نوع کود مصرفی بود. مقدار کرومای گوشت میوه بین تیمارهای مختلف کود آلی و کود شیمیایی اختلاف معنی‌داری نشان نداد. (جدول ۳). طی نگهداری در سردخانه مقدار کروما کاهش معنی‌داری یافت. کروما نشان‌دهنده درجه اشباعی رنگ سبز است و با سفتی میوه مرتبط

1- Panel test

است. یافته‌ها نشان داد که شاخص رنگ کروما میوه کیوی طی نگهداری در سردخانه در تمامی تیمارهای کوددهی کاهش یافته‌است که دلیل آن نرم شدن میوه در انتهای دوره نگهداری بوده است. طبق گزارش فتاحی مقدم و عبادی (Fattahi Moghadam and Ebadi, 2012) پدیده نرم شدن میوه که با کاهش کروما همراه است طی نگهداری و در پایان انبارداری مشهود است.

جدول ۱- تجزیه مرکب اثر نوع کود مصرفی و مدت نگهداری در سردخانه بر صفات فیزیکی میوه کیوی رقم 'هایوارد' در سال های مختلف

Table 1- Combined ANOVA for the effects of Nutrition type and cold storage duration on kiwifruit cv. Hayward physical traits in the different years

منابع تغییرات Sources of variations	درجه آزادی Df	روشنایی Lightness	کروما Chroma	زاویه رنگ Hue	سفتی Firmness	کاهش وزن Weight loss
سال Year	3	186**	479**	208.56**	155**	161**
خطا Error	8	5. 6	8.3	4.53	0.49	4.6
نوع کود Nutrition type	5	21**	8.8^ns^	5.32**	0.88**	7.8**
نوع کود×سال Nutrition type×year	15	11**	28**	3.76**	1.2**	10**
مدت نگهداری طی سردخانه Cold storage duration	3	596**	900**	30.78**	267**	1538**
مدت نگهداری طی سردخانه × سال Cold storage duration×year	9	48**	49**	8.04**	12**	32**
نوع کود × مدت نگهداری طی سردخانه Cold storage duration×Nutrition type	15	9.7*	15**	1.61 ^ns^	0.50*	1.5*
نوع کود × مدت نگهداری طی سردخانه × سال Nutrition type× Cold storage duration×year	45	8.40**	17**	1.61 ^ns^	0.94**	1.8**
خطا Error	164	4.61	4.82	1.54	0.23	0.81
ضریب تغییرات CV (%)	-	4.2	5.9	1.15	8.1	16

ns، * و **: به‌ترتیب عدم وجود اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد.

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

مقدار زاویه رنگ نیز تحت تأثیر متقابل سال و مدت نگهداری در سردخانه (جدول ۴) و اثر ساده نوع کود مصرفی بود(شکل ۱). بیشترین مقدار زاویه رنگ در تیمار مرغی (۱۰۸/۶۳) و کمترین در تیمار ورمی‌کمپوست (۱۰۷/۶۶) مشاهده شد (شکل ۱). در هر چهار سال مطالعه، میوه‌های تغذیه شده با منابع کودی مختلف طی ۳ ماه نگهداری در سردخانه، کاهش معنی‌داری در مقدار زاویه رنگ نشان دادند. بیشترین میزان زاویه رنگ با میانگین ۱۱۰/۸۹ در سال ۱۳۹۳ و کمترین آن در سال ۱۳۹۶ با میانگین ۱۰۶/۷۰ مشاهده شد(جدول ۴). آمدیو و همکاران (Amodio *et al.*, 2007) گزارش کردند میوه های کیوی تحت کشت متداول مقدار روشنایی بالاتر و زاویه رنگ و کرومای پایین‌تری نسبت به کشت ارگانیک داشتند که منجر به رنگ سبز روشن‌تر این میوه‌ها در مقایسه با میوه‌های کشت ارگانیک می شود. کاهش مقادیر زاویه رنگ و کروما در طی انبار که باعث از دست دادن شدت رنگ می‌شود نیز توسط استفانیک و همکاران (Stefaniak *et al.*, 2017) گزارش شده است.

کاهش وزن: اثرات متقابل سال، نوع کود مصرفی و زمان نگهداری در سردخانه بر کاهش وزن میوه در جدول ۵ ارائه شده است. همه تیمارها در سال اول کاهش وزن بیشتری را نسبت به سال‌های بعدی نشان دادند. بر اساس نتایج دو سال آخر آزمایش کودهای مرغی، گاوی و آزولا کاهش وزن کمتری نسبت به تیمار کود شیمیایی نشان دادند. میزان کاهش وزن میوه‌ها در همه تیمارها و در سال‌های مختلف با نگهداری میوه در سردخانه به طور معنی‌داری افزایش یافت (جدول ۵).

جدول ۲- اثر متقابل نوع کود مصرفی × زمان نگهداری در سردخانه بر شاخص رنگ میوه کیوی (روشنایی) رقم 'هایوارد' در سال های مختلف

Table 2- Interaction effect of Nutrition type ×cold storage duration on fruit color index (Lightness) of kiwifruit cv. Hayward in the different years

سال Year	نوع کود Nutrition type	مدت نگهداری در سردخانه Cold storage duration (day)			
		0	30	60	90
۱۳۹۳ 2014	شیمیایی Chemical fertilizer	57.28 a-i	54.54 a-q	48.16 l-s	50.05 f-s
	گوسفندی Sheep manure	59 a-e	54.39 a-q	51.4 a-s	51.73 a-r
	گاوی Cow manure	55.73 a-n	53.21 a-q	49.75 g-s	49.66 g-s
	مرغی Chicken manure	54.38 a-q	49.41 h-s	46.48 qrs	48.22 k-s
	ورمی کمپوست Vermicompost	59.84 a	54.94 a-q	50.4 f-s	50.22 f-s
	آزولا Azolla	58.15 a-g	54.17 a-q	51.29 b-s	48.49 k-s
۱۳۹۴ 2015	شیمیایی Chemical fertilizer	59.07 a-d	56.61 a-l	47.76 m-s	52.09 a-r
	گوسفندی Sheep manure	57.15 a-i	53.58 a-q	51.45 a-s	52.05 a-r
	گاوی Cow manure	58.38 a-f	53.8 a-q	47.09 o-s	50.54 d-s
	مرغی Chicken manure	55.47 a-o	53.74 a-q	49.68 g-s	49.67 g-s
	ورمی کمپوست Vermicompost	59.68 abc	53.01 a-r	50.8 d-s	43.09 s
	آزولا Azolla	59.79 ab	55.12 a-p	46.59 p-s	51.4 a-s
۱۳۹۵ 2016	شیمیایی Chemical fertilizer	52.85 a-r	51.44 a-s	49.79 g-s	47.41 n-s
	گوسفندی Sheep manure	54.42 a-q	48.52 j-s	52.38 a-r	48.2 k-s
	گاوی Cow manure	57.58 a-h	51.22 c-s	50.75 d-s	49.78 g-s
	مرغی Chicken manure	53.41 a-q	49.25 h-s	52.16 a-r	44.56 rs
	ورمی کمپوست Vermicompost	57.53 a-h	48.74 i-s	49.85 f-s	51.25 b-s
	آزولا Azolla	53.17 a-q	51.48 a-s	50.51 e-s	51.69 a-r
۱۳۹۶ 2017	شیمیایی Chemical fertilizer	57.06 a-j	57.15 a-i	55.48 a-o	51.84 a-r
	گوسفندی Sheep manure	56.28 a-m	56.71 a-k	54.46 a-q	55.72 a-n
	گاوی Cow manure	57.42 a-h	55.63 a-o	54.55 a-q	53.22 a-q
	مرغی Chicken manure	55.84 a-n	54.95 a-q	55.52 a-o	53.2 a-q
	ورمی کمپوست Vermicompost	55.81 a-n	55.9 a-n	53.11 a-q	52.63 a-r
	آزولا Azolla	56.46 a-l	54.57 a-q	54.2 a-q	53.36 a-q

*در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه در سطح احتمال پنج درصد با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

Mean in each column followed by the same letter are not significantly different at $p≤0.05$ based on Duncan'smultiple range test.

جدول ۳- اثر متقابل نوع کود مصرفی × زمان نگهداری در سردخانه بر شاخص رنگ میوه کیوی (کروما) رقم 'هایوارد' در سال‌های مختلف

Table 3- Interaction effect of Nutrition type ×cold storage duration on fruit color index (Chroma) of kiwifruit cv. Hayward in the different years

سال Year	نوع کود Nutrition type	مدت نگهداری در سردخانه Cold storage duration (day) 0	30	60	90
۱۳۹۳ 2014	شیمیایی Chemical fertilizer	43.09 b-i	38.46 b-v	32.33 p-w	33.8 j-w
	گوسفندی Sheep manure	43.34 a-g	38.88 b-v	32.68 o-w	32.92 n-w
	گاوی Cow manure	43.07 b-i	40.43 b-r	35.37 f-w	35.86 e-w
	مرغی Chicken manure	42.79 b-i	36.48 d-w	31.08 vw	33.64 k-w
	ورمی کمپوست Vermicompost	40.92 b-o	37.89 c-v	32.01 r-w	31.88 s-w
	آزولا Azolla	43.75 a-f	38.37 b-v	34.63 i-w	33.44 k-w
۱۳۹۴ 2015	شیمیایی Chemical fertilizer	45.09 ab	39.99 b-s	35.91 e-w	32.61 o-w
	گوسفندی Sheep manure	44.07 a-e	33.19 l-w	33.1 m-w	32.07 q-w
	گاوی Cow manure	43.11 b-i	39.62 b-u	35.69 e-w	32.57 o-w
	مرغی Chicken manure	40.46 b-r	40.08 b-s	36.61 c-w	32.83 o-w
	ورمی کمپوست Vermicompost	44.64 a-d	38.49 b-v	34.92 g-w	32.8 o-w
	آزولا Azolla	42.19 b-j	38.53 b-v	31.68 s-w	34.09 j-w
۱۳۹۵ 2016	شیمیایی Chemical fertilizer	39.33 b-v	32.85 o-w	32.6 o-w	28.91 w
	گوسفندی Sheep manure	38.74 b-v	35.59 e-w	31.66 s-w	31.1 u-w
	گاوی Cow manure	41.54 b-m	32.74 o-w	31.09 vw	32.95 n-w
	مرغی Chicken manure	41.64 b-l	37.49 c-v	33.45 k-w	31.34 t-w
	ورمی کمپوست Vermicompost	41.4 b-n	32.68 o-w	32.25 p-w	31.94 r-w
	آزولا Azolla	41.39 b-n	34.77 h-w	32.49 o-w	32.8 o-w
۱۳۹۶ 2017	شیمیایی Chemical fertilizer	42.96 b-i	40.16 b-s	39.18 b-v	40.06 b-s
	گوسفندی Sheep manure	42.82 b-i	40.95 b-o	43.34 a-g	36.26 d-w
	گاوی Cow manure	43.09 b-i	41.71 b-k	40.56 b-q	37.09 c-w
	مرغی Chicken manure	41.7 b-l	40.69 b-p	43.32 a-g	37.53 c-v
	ورمی کمپوست Vermicompost	43.17 b-h	39.81 b-t	41.76 b-k	38.25 c-v
	آزولا Azolla	42.62 b-i	40.69 b-p	41.94 b-k	38.09 c-v

*در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

Mean in each column followed by the same letter are not significantly different at *p≤0.05*

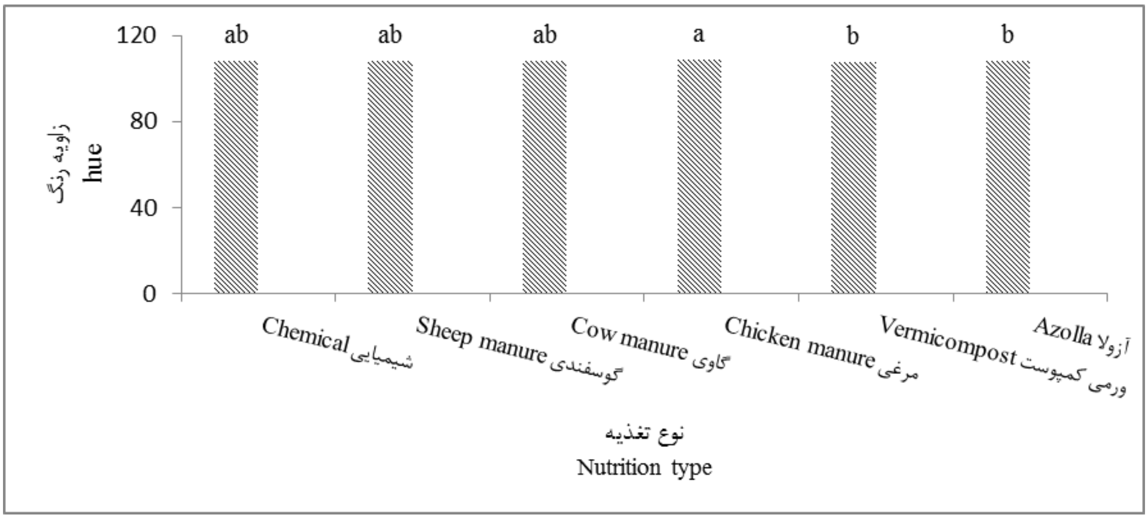
جدول ٤- اثر متقابل سال × زمان نگهداری در سردخانه بر شاخص رنگ میوه کیوی (زاویه رنگ) رقم 'هایوارد'

Table 4- Interaction effect of year ×cold storage duration on fruit color index (hue) of kiwifruit cv. Hayward

سال Year	مدت نگهداری در سردخانه Cold storage duration (day)			
	0	30	60	90
۱۳۹۳ 2014	110.89 a	110.41 ab	109.86 b	110.49 ab
۱۳۹۴ 2015	109.72 b	108.63 c	108.06 cd	106.53 ef
۱۳۹۵ 2016	108.16 cd	107.33 de	106.08 f	106.57 ef
۱۳۹۶ 2017	106.70 ef	106.85 ef	107.07 ef	105.87 g

*در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه در سطح احتمال پنج درصد تفاوت با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن معنی‌داری با هم ندارند.

Mean in each column followed by the same letter are not significantly different at $p\leq0.05$ based on Duncan'smultiple range test.



شکل ۱- اثر نوع تغذیه بر شاخص رنگ میوه کیوی (زاویه رنگ) رقم 'هایوارد'

Figure 1- Effect of nutrition type on fruit color index (hue) of kiwifruit cv. Hayward (DMRT, $p\leq0.05$).

کاهش وزن میوه به‌طور عمده با تنفس و تبخیر رطوبت در اطراف پوست میوه ارتباط دارد که این کاهش درنتیجه دهیدراسیون و آب ازدست‌دهی از سطح میوه‌ها طی نگهداری در سردخانه ایجاد می‌شود (Martinez- Romero *et al.,* 2006). عشورنژاد و همکاران (Ashournezhad *et al.,* 2011) بیان کردند میوه‌های کیوی‌فروت تولید شده در کشت ارگانیک کمترین درصد کاهش وزن و میوه‌های تولید شده در کشت متداول بالاترین کاهش وزن را طی نگهداری در سردخانه نشان دادند. زاهدی پور و همکاران (Zahedipour *et al.,* 2019) با مقایسه‌ی کاهش وزن انگور در کشت متداول و ارگانیک طی نگهداری در سردخانه دریافتند مقدار کاهش وزن در کشت متداول کمتر از ارگانیک بود. آن‌ها دلیل کاهش وزن بیشتر میوه انگور در کشت ارگانیک را به لایه نازکتر واکس اپیکوتیکولی میوه در نتیجه دوره طولانی‌تر رسیدگی و بلوغ که منجر به تجزیه لایه واکس و دیواره‌های ثانویه سلولی شده نسبت دادند.

سفتی بافت: اثرات متقابل تیمار کوددهی و زمان نگهداری در سردخانه بر سفتی بافت میوه در جدول ۶ ارائه شده است. در سال چهارم سفتی گوشت میوه‌های تغذیه شده با منابع کودی آلی گاوی با میانگین ۸/۷۴ بالاترین و در سال سوم در تیمار کود شیمیایی با ۳/۲ کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع کمترین بود. اثر مدت نگهداری در سردخانه روی سفتی میوه روند کاهشی معنی‌داری نشان داد (جدول ۶). حفظ سفتی میوه از مرحله تولید در باغ تا رسیدن به مصرف‌کننده یکی از مهمترین مسائلی است که تولیدکنندگان و دست‌اندرکاران صنعت میوه با آن مواجه هستند.

جدول ۵- اثر متقابل نوع کود مصرفی × زمان نگهداری در سردخانه بر درصد کاهش وزن میوه رقم'هایوارد' در سال های مختلف

Table 5- The effect of Nutrition type ×cold storage duration on fruit weight loss percentage of kiwifruit cv. Hayward in the different years

سال Year	نوع کود Nutrition type	مدت نگهداری در سردخانه Cold storage duration (day) 0	30	60	90
۱۳۹۳ 2014	شیمیایی Chemical fertilizer	0.00 z	4.53 q-y	9.04 g-n	13.60 b-e
	گوسفندی Sheep manure	0.00 z	4.96 p-y	9.09 g-n	13.22 b-f
	گاوی Cow manure	0.00 z	5.27 o-y	9.60 g-l	13.74 bcd
	مرغی Chicken manure	0.00 z	4.96 p-y	9.29 g-m	13.67 bcd
	ورمی کمپوست Vermicompost	0.00 z	5.29 o-y	9.82 f-l	14.24 bc
	آزولا Azolla	0.00 z	7.63 i-t	15.16 b	21.25 a
۱۳۹۴ 2015	شیمیایی Chemical fertilizer	0.00 z	4.11 t-y	7.63 i-t	10.53 d-j
	گوسفندی Sheep manure	0.00 z	4.22 s-y	8.02 h-q	11.48 c-h
	گاوی Cow manure	0.00 z	4.18 s-y	7.88 i-q	11.20 c-i
	مرغی Chicken manure	0.00 z	4.01 u-y	7.44 j-u	10.26 d-j
	ورمی کمپوست Vermicompost	0.00 z	4.68 q-y	8.94 g-n	11.99 b-g
	آزولا Azolla	0.00 z	4.28 r-y	7.72 i-s	11.14 c-i
۱۳۹۵ 2016	شیمیایی Chemical fertilizer	0.00 z	3.94 u-y	6.00 m-y	8.07 h-q
	گوسفندی Sheep manure	0.00 z	3.43 xyz	5.88 m-y	8.29 h-p
	گاوی Cow manure	0.00 z	3.56 w-z	5.61 n-y	7.44 j-u
	مرغی Chicken manure	0.00 z	3.20 xyz	5.69 n-y	7.80 i-r
	ورمی کمپوست Vermicompost	0.00 z	4.03 u-y	7.36 j-u	9.03 g-n
	آزولا Azolla	0.00 z	3.35 xyz	5.12 o-y	7.16 j-v
۱۳۹۶ 2017	شیمیایی Chemical fertilizer	0.00 z	3.65 v-y	7.05 j-w	9.69 f-l
	گوسفندی Sheep manure	0.00 z	4.02 u-y	7.07 j-w	10.02 e-k
	گاوی Cow manure	0.00 z	3.24 xyz	6.39 l-y	8.66 g-o
	مرغی Chicken manure	0.00 z	3.28 xyz	5.06 p-y	7.62 i-t
	ورمی کمپوست Vermicompost	0.00 z	3.22 xyz	6.61 k-x	9.17 g-n
	آزولا Azolla	0.00 z	2.92 yz	6.42 l-y	8.49 g-p

*در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه در سطح احتمال پنج درصد با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

Mean in each column followed by the same letter are not significantly different at *p≤0.05* based on Duncan'smultiple range test.

جدول ٦- اثر متقابل نوع کود مصرفی × زمان نگهداری در سردخانه بر سفتی میوه کیوی رقم 'هایوارد'

Table 6- The interaction effect of Nutrition type ×cold storage duration on fruit firmness of kiwifruit cv. Hayward

سال Year	نوع کود Nutrition type	مدت نگهداری در سردخانه Cold storage duration (Day) 0	30	60	90
۱۳۹۳ 2014	شیمیایی Chemical fertilizer	5.16 e-j	2.95 m-w	2.19 r-z	2 r-z
	گوسفندی Sheep manure	6.98 a-e	3.25 k-u	2.03 r-z	2 r-z
	گاوی Cow manure	6.41 c-h	3.58 j-s	2.20 q-z	2.1 r-z
	مرغی Chicken manure	5.34 e-j	2.96 m-v	1.78 s-z	1.65 t-z
	ورمی کمپوست Vermicompost	6.55 b-g	3.55 j-t	2.05 r-z	2 r-z
	آزولا Azolla	8.33 ab	3 l-v	1.89 s-z	1.7 s-z
۱۳۹۴ 2015	شیمیایی Chemical fertilizer	5.7 d-i	2.32 q-z	1.28 v-z	0.7 z
	گوسفندی Sheep manure	4.83 g-m	1.38 u-z	1.47 u-z	0.87 yz
	گاوی Cow manure	4.85 g-m	2.65 o-y	1.12 v-z	0.9 yz
	مرغی Chicken manure	5 f-k	2.4 q-z	1.28 v-z	1 xyz
	ورمی کمپوست Vermicompost	5.83 d-i	2.82 n-x	1.42 u-z	0.8 yz
	آزولا Azolla	5.12 e-k	2.22 q-z	1.33 v-z	0.83 yz
۱۳۹۵ 2016	شیمیایی Chemical fertilizer	2.33 q-z	1.2 v-z	1.33 v-z	1.05 w-z
	گوسفندی Sheep manure	4.65 g-n	1.77 s-z	1.71 s-z	1.43 u-z
	گاوی Cow manure	4.45 i-p	1.75 s-z	1.42 u-z	1.42 u-z
	مرغی Chicken manure	5.78 d-i	2.15 r-z	1.57 u-z	0.83 yz
	ورمی کمپوست Vermicompost	4.33 i-p	1.8 s-z	1.65 t-z	1.77 s-z
	آزولا Azolla	2.9 n-x	2.05 r-z	1.4 u-z	1.4 u-z
۱۳۹۶ 2017	شیمیایی Chemical fertilizer	8.17 abc	7.32 a-d	3.93 i-r	2.24 q-z
	گوسفندی Sheep manure	7.98 abc	5.77 d-i	4.67 g-n	1.83 s-z
	گاوی Cow manure	8.74 a	5.6 d-i	4.1 i-q	2.1 r-z
	مرغی Chicken manure	8.13 abc	7.32 a-d	5.42 d-j	2.33 q-z
	ورمی کمپوست Vermicompost	7.89 abc	6.88 a-f	4.88 g-l	1.93 s-z
	آزولا Azolla	8.53 a	6.88 a-f	4.52 h-o	2.55 p-z

*در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه در سطح احتمال پنج درصد با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی داری با هم ندارند.

Mean in each column followed by the same letter are not significantly different at $p \leq 0.05$ based on Duncan'smultiple range test.

مقدار سفتی بیشتر میوه کیوی در سیستم کشت ارگانیک نسبت به کشت متداول بوسیله دوولی و همکاران (D'evoli *et al*., 2013) گزارش شده است. اگرچه برخی مطالعات تفاوتی را در سفتی گوشت میوه بین کیوی‌فروت ارگانیک و متداول پیدا نکردند. در مقابل، آمادیو و همکاران (Amodio *et al*., 2007)، سفتی بیشتر میوه‌های کیوی کشت متداول طی ۴ ماه نگهداری در دمای صفر درجه در مقایسه با میوه‌های پرورش یافته در سیستم تولید ارگانیک را مشاهده کردند. آن‌ها علت سفتی بیشتر را به عملکرد بالاتر کشت متداول نسبت به ارگانیک، مقدار بار بیشتر در نتیجه اندازه کوچکتر میوه‌های کشت متداول در مقایسه با ارگانیک بیان کردند. مطالعات قبلی نشان داد که سفتی میوه می‌تواند تحت تاثیر چندین عامل از جمله برنامه کوددهی، قرارگیری در معرض نور، مقدار کلسیم و مقدار ماده خشک واقع شود. سینگ و همکاران (Singh *et al*., 2008)، نیز گزارش کردند که کاربرد ورمی کمپوست سبب سفتی میوه توت‌فرنگی می‌شود. علت نرم شدن میوه طی انبارداری حلالیت مواد غیرمحلول چون مواد معدنی دیواره سلولی و نشاسته است. عواملی چون بلوغ میوه و ترکیبات معدنی در سرعت نرم شدن میوه نقش دارد (Fattahi Moghadam and Halajisani, 2012). طبق گزارش عشورنژاد و همکاران (Ashournezhad *et al*., 2011) با نگهداری میوه در انبار، سفتی بافت میوه کاهش یافت، به‌طوری که این کاهش در میوه‌های تولیدی در کشت متداول به‌طور معنی‌داری بالاتر از میوه‌های ارگانیک بود که با نتایج این مطالعه مطابقت دارد. بسیاری از فرایندهای فیزیولوژی مثل تورم دیواره سلولی و تجزیه و هیدرولیز نشاسته و کاهش آب و پتانسیل اسمزی در نرم شدن کیوی مؤثر است (Redgewell and Fry, 1993). مهم‌ترین تغییر فیزیولوژیکی که منجر به نرم شدن کیوی می‌شود از دست دادن ساختار دیواره سلولی به‌ویژه انحلال ساختارهای پکتین است (Brummell, 2006).

صفات شیمیایی میوه

نتایج تجزیه واریانس مرکب نشان داد اثر سال، نوع کود مصرفی، زمان نگهداری در سردخانه و برهمکنش نوع کود مصرفی در مدت نگهداری در سردخانه بر مواد جامد محلول، اسیدیته قابل تیتراسیون و نسبت مواد جامد محلول به اسیدیته قابل تیتراسیون معنی‌دار بود (جدول ۷). بنابراین اثر نوع تیمار کودی بر مواد جامد محلول، اسیدیته قابل تیتراسیون به مدت زمان نگهداری در سردخانه بستگی دارد. هم چنین بررسی نتایج نشان داد که فقط اثر زمان نگهداری در سردخانه و برهمکنش این فاکتور با سال و نیز اثرات متقابل نوع کود مصرفی در مدت نگهداری در سردخانه بر نسبت مواد جامد محلول به اسیدیته قابل تیتراسیون تاثیر معنی‌داری داشتند (جدول ۷).

جدول ۷- نتایج تجزیه واریانس اثر نوع کود مصرفی و مدت نگهداری در سردخانه بر صفات شیمیایی میوه کیوی طی چهار سال

Table 7- Analysis of variance for Nutrition type and cold storage duration effects on kiwifruit chemical traits during 4 year

منابع تغییرات Source variations	درجه آزادی Df	مواد جامد محلول کل TSS	اسیدیته کل TA	نسبت مواد جامد محلول به اسیدیته TSS/TA
سال Year	3	76**	1.7**	68**
خطا Erorr	8	0.89	0.02	0.36
نوع کود Nutrition type	5	0.99*	0.04*	0.27 ns
نوع کود * سال Nutrition type*year	15	1.3**	0.05**	0.29 ns
مدت نگهداری طی سردخانه Cold storage duration	3	440**	0.29**	151**
مدت نگهداری طی سردخانه * سال Cold storage duration*year	9	17**	0.25**	13**
نوع کود *مدت نگهداری طی سردخانه Cold storage duration* Nutrition type	15	0.69*	0.03*	0.63*
نوع کود * مدت نگهداری طی سردخانه * سال Nutrition type* Cold storage duration* year	45	0.46 ns	0.02 ns	0.43 ns
خطا Error	164	0.38	0.02	0.33
ضریب تغییرات CV(%)		5.1	7.1	8.1

ns، * و ** : به‌ترتیب عدم وجود اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد.

ns, * and **: non-significant difference, significant difference at the level of five and one percent probability, respectively.

مواد جامد محلول (TSS): اثر متقابل نوع کود مصرفی در زمان نگهداری در سردخانه بر مواد جامد محلول در جدول ۸ ارائه شده است. در زمان برداشت اختلاف معنی‌داری در مقدار TSS بین میوه های تغذیه شده با منابع کودی مختلف مشاهده نشد. بعد از سه ماه نگهداری در سردخانه مقدار TSS میوه‌های تغذیه شده با کودهای آلی بطور معنی‌داری بیشتر از کود شیمیایی بود. مقدار بیشتر مواد جامد محلول در سیستم کاشت ارگانیک در مقایسه با کشت متداول نیز بوسیله دوولی و همکاران (D'evoli *et al.*, 2013) گزارش شد. مقدار TSS در همه تیمارها روند افزایشی معنی‌داری را طی سه ماه نگهداری در سردخانه نشان داد. (جدول ۸).

مواد جامد محلول یک ویژگی مهم و شاخصی از کیفیت خوراکی میوه می‌باشد. بررسی منابع نشان می‌دهد که مواد جامد محلول طی انبارداری افزایش می‌یابد (Park *et al.*, 2014). افزایش مواد جامد محلول طی انبارداری در نتیجه کاهش آب‌میوه و تجزیه قندهای مرکب به قندهای ساده اتفاق می‌افتد. عواملی که باعث کاهش مقدار تنفس و تولید اتیلن می‌شوند به واسطه کاهش روند پیری میوه‌ها به طور موقت سرعت تنفس را کاهش داده و سبب حفظ قند و مواد جامد محلول در میوه‌ها می‌شوند (Pota *et al.*, 1989). مطالعات روی گوجه فرنگی نشان داده نیتروژن بالا و روش کشت متداول منجر به رشد رویشی بیشتر، ممانعت از تجمع قندها و کاهش مقدار مواد جامد محلول می‌شود. همچنین آمادیو و همکاران (Amodio *et al.*, 2007) بیان کردند، افزایش TSS در زمان انبارداری فقط مربوط به افزوده شدن قند نیست، بلکه به تغییرات غلظت مواد دیگری مانند اسیدها، پکتین‌های محلول و ترکیبات فنلی نیز بستگی دارد. در گزارشی تیمار نیتروژن بر مواد جامد محلول تاثیر قابل توجهی داشته و با افزایش نیتروژن از ۱۲۶ به ۲۲۵ کیلوگرم در هکتار مواد جامد محلول کاهش یافت (Mitchell, 1990). نتایج همبستگی نشان می دهد که TSS با مقدار سفتی همبستگی منفی و معنی‌داری با r=-۰/۸۶ دارد، (نتایج آورده نشده است). مقدار TSS در کنار سفتی بافت میوه کاربرد گسترده‌ای برای تعیین کیفیت پس از برداشت میوه های کیوی دارد. همبستگی منفی بین سفتی و مقدار TSS بیانگر هیدرولیز بیشتر نشاسته‌ی گوشت میوه به قندهای هگزوز است. هر چه مقدار و سرعت هیدرولیز بیشتر باشد، میوه زودتر نرم شده و به علاوه در برابر عوامل بیماری‌زای انباری آسیب‌پذیرتر می‌شوند و عمر انباری آن نیز کاهش می‌یابد (Lara *et al.*, 2004).

جدول ۸- اثر متقابل نوع کود مصرفی × زمان نگهداری در سردخانه بر مواد جامد محلول کل (TSS) میوه کیوی رقم 'هایوارد'

Table 8- Interaction effect of Nutrition type ×cold storage duration on fruit total soluble solid (TSS) of kiwifruit cv. Hayward

نوع کود Nutrition type	مدت نگهداری در سردخانه Cold storage duration (day) 0	30	60	90
شیمیایی Chemical fertilizer	8.8 f	12.5 de	13.7 b	13.8 b
گوسفندی Sheep manure	8.7 f	12.3 e	13.6 bd	14.0 a
گاوی Cow manure	8.6 f	12.4 de	14.5 a	14.2 a
مرغی Chicken manure	9.3 f	12.7 bd	13.9 b	14.1 a
ورمی کمپوست Vermicompost	8.5 f	12.0 e	14.0 a	14.2 a
آزولا Azolla	8.7 f	12.6 de	13.9 b	14.3 a

*در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه در سطح احتمال پنج درصد با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

Mean in each column followed by the same letter are not significantly different at $p \leq 0.05$ based on Duncan'smultiple range test.

اسیدیته قابل تیتراسیون (TA): اثر متقابل نوع کود مصرفی در زمان نگهداری در سردخانه بر اسیدیته کل در جدول ۹ ارائه شده است. در زمان برداشت اختلاف معنی‌داری در مقدار اسیدیته کل بین میوه های تغذیه شده با منابع کودی مختلف مشاهده نشد. اما بعد از سه ماه نگهداری در سردخانه مقدار TA میوه‌های تغذیه شده با کودهای آلی بطور معنی‌داری بیشتر از کود شیمیایی بود. مقدار اسیدیته کل طی سه ماه نگهداری در سردخانه به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (جدول ۹). اسیدیته به‌طور مستقیم در ارتباط با غلظت اسید آلی در میوه است که یک عامل مهم در نگهداری کیفیت میوه است. ازآنجاکه اسیدهای آلی به‌عنوان سوبسترا برای واکنش‌های

آنزیمی تنفس به کار می‌روند، انتظار می‌رود طی نگهداری اسیدیته میوه کاهش یابد (Solaimani Aghdam *et al.*, 2011).

در پژوهش سینگ و همکاران (Singh *et al.*, 2008)، در مورد بسترهای کشت حاوی کود آلی گزارش نمودند که کمترین اسیدیته کل در میوه‌ی توت‌فرنگی در بسترهای کشت حاوی ورمی‌کمپوست مشاهده گردید. در بررسی اسیدیته مشخص شد که مقدار آن تا دوره اول روند افزایشی و پس از آن روند کاهشی داشت. مقدار TA در زمان برداشت در میوه‌های ارگانیک به‌طورمعنی‌داری بالاتر بوده است اما با طولانی شدن مدت انبارداری مقدار TA به‌تدریج کاهش یافته است، به‌طوری‌که در پایان انبارداری مقدار TA میوه‌های ارگانیک کمی بالاتر از روش متداول بوده است (Ashournezhad *et al.*, 2011).

جدول ۹- اثر متقابل نوع کود مصرفی × زمان نگهداری در سردخانه بر شاخص اسیدیته کل(TA) میوه کیوی رقم 'هایوارد'

Table 9- Interaction effect of Nutrition type ×cold storage duration on fruit total acidity (TA) of kiwifruit cv. Hayward

نوع کود Nutrition type	مدت نگهداری در سردخانه Cold storage duration (day)			
	0	30	60	90
شیمیایی Chemical fertilizer	1.92 ab	1.78 abc	1.67 c	1.71 bc
گوسفندی Sheep manure	1.76 abc	1.79 abc	1.67 c	1.84 abc
گاوی Cow manure	1.84 abc	1.91 ab	1.73 abc	1.85 abc
مرغی Chicken manure	1.93 a	1.79 abc	1.71 bc	1.84 abc
ورمی کمپوست Vermicompost	1.83 abc	1.75 abc	1.72 abc	1.78 abc
آزولا Azolla	1.86 abc	1.81 abc	1.71 abc	1.77 abc

*در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه در سطح احتمال پنج درصد با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

Mean in each column followed by the same letter are not significantly different at $p \leq 0.05$ based on Duncan'smultiple range test.

نسبت مواد جامد محلول به اسیدیته قابل تیتراسیون (TSS/TA): نسبت مواد جامد محلول به اسیدیته قابل تیتراسیون (شاخص رسیدگی میوه‌ها) بین منابع مختلف تغذیه‌ای تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۱۰). شاخص رسیدگی TSS/TA نیز طی سه ماه نگهداری در سردخانه در همه تیمارهای کودی افزایش معنی‌داری یافت.

خواص ارگانولپتیک میوه های مختلف به شدت وابسته به مقدار مواد جامد محلول، اسیدیته کل و نسبت آن TSS/TA است. به‌طور کلی، هر یک از عوامل قبل و پس از برداشت، باید از کاهش اسیدیته جلوگیری کرده و نسبت متعادلی از TSS/TA را برای بهبود عطر و طعم میوه فراهم کند. نسبت TSS/TA تعیین‌کننده طعم و مزه میوه‌ها است. پک و همکاران (Peck *et al.*, 2006) نیز گزارش دادند که تفاوتی در مقدار مواد جامد محلول، اسیدیته کل و نسبت آن TSS/TA سیب های گالاکسی گالا تحت سیستم کشت آلی و متداول نداشتند.

آنالیز حسی: با بررسی وضعیت ظاهری پوست میوه مشخص شد پس از سه ماه نگهداری در سردخانه تفاوت معنی‌داری بین وضعیت ظاهری پوست میوه در تیمارهای مختلف مشاهده نشد؛ اما میوه‌های تغذیه شده با کود شیمیایی و ورمی‌کمپوست از وضعیت ظاهری گوشت بهتری برخوردار بودند. طی سه ماه نگهداری در سردخانه میوه‌های تغذیه شده با ورمی‌کمپوست طعم بهتری را نسبت به سایر منابع تغذیه‌ای داشتند. کمترین مقدار طعم در میوه‌های تغذیه شده با آزولا مشاهده شد. رگانولد و همکاران (Reganold *et al.*, 2010) با ارزیابی حسی توت فرنگی ارگانیک دریافتند که میوه‌های کشت ارگانیک شیرین‌تر بوده و عطر و طعم و پذیرش کلی بالاتری در مقایسه با میوه‌های کشت متداول دارند. به‌طور مشابه، ابو زهرا و همکاران (Abu-Zahra *et al.*, 2006) نمرات حسی بالایی برای میوه‌های ارگانیک تولید شده در مقایسه با میوه‌های کشت متداول گزارش کردند.

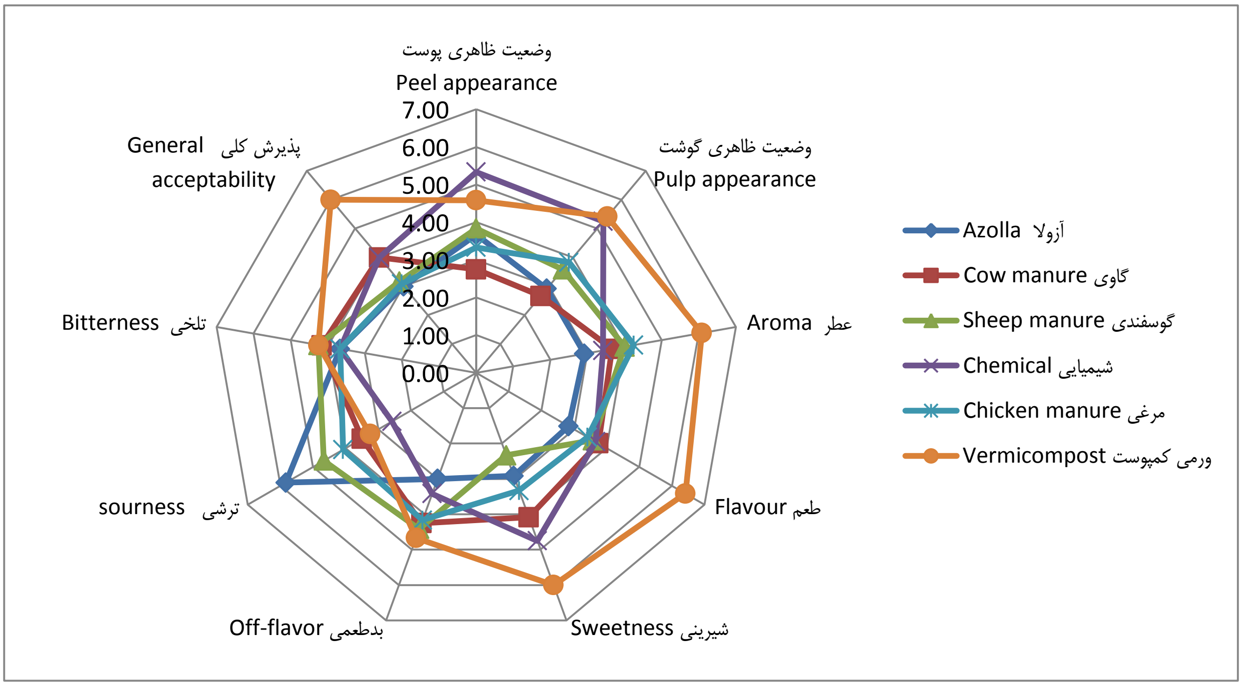
جدول ۱۰- اثر متقابل نوع کود مصرفی × زمان نگهداری در سردخانه بر شاخص TSS/TA میوه کیوی رقم 'هایوارد'

Table 10- Interaction effect of Nutrition type and cold storage duration on fruit TSS/TA index of kiwifruit cv. Hayward

نوع کود Nutrition type	مدت نگهداری در سردخانه Cold storage duration (day)			
	0	30	60	90
شیمیایی Chemical fertilizer	4.88 d	7.09 bc	8.26 ab	8.13 ab
گوسفندی Sheep manure	5.54 d	7.03 bc	8.19 ab	7.62 abc
گاوی Cow manure	4.80 d	6.60 c	8.47 a	7.71 abc
مرغی Chicken manure	5.03 d	7.16 bc	8.25 ab	7.69 abc
ورمی کمپوست Vermicompost	4.80 d	7.03 bc	8.15 ab	7.99 ab
آزولا Azolla	4.98 d	7.03 bc	8.13 ab	8.07 ab

*در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه در سطح احتمال پنج درصد با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

Mean in each column followed by the same letter are not significantly different at p≤0.05 based on Duncan'smultiple range test.



شکل ۲- اثر نوع کود مصرفی بر ویژگی‌های حسی میوه کیوی رقم 'هایوارد' طی نگهداری در سردخانه

Figure 2- The effect of Nutrition type on kiwifruit cv. Hayward sensory attributes during cold storage

مقدار شیرینی میوه‌های کیوی تغذیه شده با ورمی‌کمپوست به‌طور معنی‌داری بیش از سایر تیمارها بود. در پایان دوره نگهداری در سردخانه میوه‌های تغذیه‌شده با کود آزولا، گوسفندی و مرغی بیشترین مقدار ترشی را در بین سایر منابع تغذیه‌ای داشتند. همچنین از پذیرش کلی پایین‌تری نسبت به سایر تیمارها برخوردار بودند. در مجموع تیمار کود آلی ورمی‌کمپوست وضعیت ظاهری، طعم، شیرینی و پذیرش کلی بالاتری نسبت به سایر تیمارها داشت (شکل ۲). نونز دامسن و همکاران (Nunes-Damacen *et al.*, 2013) نیز با مقایسه کیفی و حسی میوه کیوی از سیستم‌های تولید ارگانیک، متداول و تلفیقی بیان کردند که میوه‌های کشت متداول شیرین‌تر و آبدارتر بودند. برخی مطالعات نتایج متناقضی روی اثر سیستم‌های تولید روی کیفیت حسی داشته‌اند. در پژوهشی روی سیب های فوجی و رویال

گالا هیچ اختلاف معنی‌داری در مزه، عطر و طعم سیستم‌های تولید ارگانیک و متداول مشاهده نشد (Amarante et al., 2008). همچنین در گزارش دیل و پرانگ (DeEll and Prange, 1992) اختلاف معنی‌داری در آبدار بودن، شیرینی، ترشی و بد مزگی سیب های مک اینتاش و کورتلند تولید شده با کشت ارگانیک و متداول در زمان برداشت و یا بعد از انبارداری مشخص نشد.

نتیجه‌گیری

در پژوهش حاضر اثرات کوتاه مدت پنج نوع کود آلی شامل آزولا، کود مرغی، کود گوسفندی، کود گاوی و ورمی‌کمپوست و نیز کود شیمیایی کامل، بر برخی ویژگی‌های کمی و کیفی میوه تاک‌های کیوی‌فروت طی نگهداری در سردخانه انجام شده است. نوع کود مصرفی نقش مهمی در خصوصیات کیفی و حسی میوه کیوی رقم 'هایوارد' دارد. تغذیه با کودهای آلی گاوی و ورمی‌کمپوست بیشترین اثر مطلوب را بر ویژگی‌های مهم میوه کیوی چون کاهش وزن، سفتی بافت، TSS، TA و کیفیت حسی نشان داد. بنابراین چنین میوه‌هایی خصوصیات کیفی، حسی و عمر انباری بهتری را دارند. کاهش وزن یکی از مهمترین عوامل موثر محدود کننده عمر میوه‌های تازه در دوره پس از برداشت است که با افزایش مدت زمان نگهداری میوه در سردخانه بیشتر شده، به‌طوری‌که کاهش وزن میوه‌ها منجر به چروکیدگی و از دست رفتن ارزش تجاری آن‌ها می‌شود. در میوه‌های تغذیه شده با کود مرغی و گاوی در پایان مدت نگهداری در سردخانه کمترین درصد کاهش وزن مشاهده شد. در ارزیابی حسی میوه‌های تغذیه شده با کودگاوی و ورمی‌کمپوست میوه‌های با کیفیت مطلوب و ویژگی‌های حسی قابل قبول و بازارپسندتری را نشان دادند. در مجموع می‌توان گفت که با توجه به افزایش قیمت کودهای شیمیایی و مخاطرات زیست محیطی ناشی از مصرف آنها در شمال کشور و افزایش تمایل به مصرف میوه‌های تغذیه شده با کود آلی در بازار امری ضروری است. اگرچه مطالعات بلند مدت این موضوع نیز ضرورت دارد تا ابعاد گسترده جایگزینی کودهای شیمیایی با کودهای آلی مشخص شود.

سپاسگزاری

این مقاله برگرفته از پروژه تحقیقاتی با شماره مصوب ۹۳۱۰۲-۱۷-۱۷-۷ پژوهشکده مرکبات و میوه های نیمه‌گرمسیری (رامسر) است که از حمایت مالی آن واحد سپاسگزاری می‌شود.

منابع

1. Abu-Zahra, T., Al-Ismail, K., & Shatat, F.(2006). Effect of organic and conventional systems on fruit quality of strawberry (*Fragaria* × *ananassa* duch) grown under plastic house conditions in the Jordan Valley. *Acta Horticulturae*, *741*, 159–171. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2007.741.18
2. Agricultural Statistics, (2021). *Horticultural crops*. Ministry of Agriculture, 163p. (In persian)
3. Amarante, C.V.T., Steffens, C.A., Mafra, Á., & Albuquerque, J.A. (2008). Yield and fruit quality of apple from conventional and organic production systems. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, *43*, 333–340.
4. Amodio, M.L., Colelli, G., Hasey, J.K., & Kader, A. (2007). A comparative study of composition and postharvest performance of organically and conventionally grown kiwifruits. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *87*, 1228–1236. https://doi.org/10.1002/jsfa.2820
5. AOAC. (1998). *Official methods of analysis*. 16th ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington D.C. USA.
6. Ashournezhad, M., Ghasemnezhad, M., Aghajanzadeh, S., Bakhshi, D., & Fatahi Moghadam, J. (2011). A comparison of the nutritional value of, and the antioxidant compounds present in the organic, integrated, and conventionally produced kiwifruits cv. 'Hayward'. *Iranian Journal of Horticultural Sciences*, *42*(4), 413-422. (In Persian with English abstract)
7. Benge, J.R., Banks, N.H., Tillmann, R., & Nihalde Silva, H. (2000). Pairwise comparison of the storage potential of kiwifruit from organic and conventional production system. *HortScience*, *28*, 147–152. https://doi.org/10.1080/01140671.2000.9514134
8. Brummell, D.A. (2006). Cell wall disassembly in ripening fruit. *Functional Plant Biology*, *33*(2), 103-119. https://doi.org/10.1071/FP05234
9. DeEll, J.R., & Prange, R.K. (1992). Postharvest quality and sensory attributes of organically and conventionally grown apples. *HortScience*, *27*(10), 1096-1099. https://doi.org/10.21273/HORTSCI.27.10.1096
10. D'evoli, L., Moscatello, S., Baldicchi, A., Lucarini, M., Cruz-Castillo, J.G., Aguzzi, A., Gabrielli, P., Proietti, S., Battistelli, A., Famiani, F., Böhm, V., & Lombardi-Boccia, G. (2013). Postharvest quality, phytochemicals and antioxidant activity in organic and conventional kiwifruit (*Actinidia deliciosa*, cv. Hayward). *Italian Journal of Food Science*, *25*(3), 362-368.
11. Fattahi Moghadam, J., & Halajisani, M.F. (2012). Determination of sutaible harvesting time and its effect on postharvest kiwifruit quality. *Journal of Horticultural Science*, *26*(2), 230-237. (In Persian with English abstract)

12. Fattahi Moghadam, J., & Ebadi, H. (2012). The effect of hot water treatments on gray mold and physicochemical quality of kiwifruit during storage. *Journal of Ornamental and Horticultural Plants*, *2*(2), 73-82.
13. Feng, J., MacKay, B.R., & Maguire, K.M. (2003). Variation in firmness of packed in Hayward kiwifruit. *Acta Horticulturae, 610*, 211-218. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2003.610.28
14. Hasey, J.K., Johnson, R.S., Meyer, R.D., & Klonsky, K. (1997). An organic versus conventional farming system in kiwifruit. *Acta Horticulturae, 444*, 223–228. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1997.444.33
15. Hassanzade Naranjboni, F., Ebrahimi, R., Moradi, B., & Raiesi, T. (2018). Effect of fertilizer type and its source on nutrients distribution in kiwifruit leaves and fruit. *Journal of Water and Soil, 32*(1), 59-72. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jsw.v32i1.63419
16. Khalil, H.A., & Hassan, S.M. (2015). Ascorbic acid, carotene, total phenolic compound and microbiological quality of organic and conventional citrus and strawberry grown in Egypt. *African Journal of Biotechnology, 14*, 272–277. https://doi.org/10.5897/AJB2014.14170
17. FAO. (2020). FAOSTAT, production. http://faostat3.fao.org
18. Lara, I., Garcia, P., & Vendrell, M. (2004). Modifications in cell wall composition after cold storage of calcium-treated strawberry (*Fragaria ananassa* Duch.) fruit. *Postharvest Biology and Technology*, *34*, 331–339. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2004.05.018
19. Martinez- Romero, D., Alburguegue, N., Valverde, J.M., Guillen, F., Castillo, S., Valero, D., & Serrano, M. (2006). Postharvest Sweet cherry quality and safety maintenance by *Aloe vera* treatments: A new edible coating. *Postharvest Biology and Technology, 39*, 93-100. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2005.09.006
20. Mitchell, F.G. (1990). Postharvest physiology and technology of kiwifruit, *Acta Horticulturae, 282*, 291-307. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1990.282.37
21. Moradi, B. (2019). *Investigation on the possibility of organic Kiwifruit production in the North of Iran*. Final report of project. Agricultural Research, Education and Extension Organization, Citrus and Subtropical Research Center 93102-17-17-7. (In Persian with English abstract)
22. Nunes-Damacen, M., Muñoz-Ferreiro, N., Romero-Rodríguez, M.A., & Vázquez-Odériza, M.L. (2013). A comparison of kiwi fruit from conventional, integrated and organic production systems. *LWT Food Science and Technology, 54*, 291-297. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.05.002
23. Park, Y.S., Im, M.H., Choi, J.H., Lee, H.Ch., Ham, K.S., Kang, S.G., Park, Y.K., Suhaj, M., Namiesnik, J., & Gorinstein, Sh. (2014). Effect of long-term cold storage on physicochemical attributes and bioactive components of kiwi fruit cultivars. *Journal of Food, 12*(4), 360-368. https://doi.org/10.1080/19476337.2014.888772
24. Peck, G.M., Andrews, P.K., Reganold, J.P., & Fellman, J.K. (2006). Apple orchard productivity and fruit quality under organic, conventional, and integrated management. *HortScience*, *41*, 99–107. https://doi.org/10.21273/HORTSCI.41.1.99
25. Pota, S., Keta, S., & Thongtham, M.L.C. (1989). Effect of packing materials and temperatures on quality and storage life of pomegranate fruits (*Punica Granatum* L.). *Agriculture and Natural Resources*, *21*(4), 328-333.
26. Redgewell, R.J., & Fry, S.C. (1993). Xyloglucan endotransglycosylase activity increases during kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) ripening. Implications for fruit softening. *Plant Physiology*, *103*, 1399-1406. https://doi.org/10.1104/pp.103.4.1399
27. Reganold, J.P., Andrews, P.K., Reeve, J.R., Carpenter-Boggs, L., Schadt, C.W., Alldredge, J.R., Ross, C.F., Davies, N.M., & Zhou, J. (2010). Fruit and soil quality of organic and conventional strawberry agroecosystems. *PLoS One, 5*(9), e12346. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0012346
28. Singh, R., Sharma, R.R., Kumar, S., Gupta, R.K., & Patil, R.T. (2008). Vermicompost substitution influences growth, physiological disorders, fruit yield and quality of strawberry *(Fragaria ananassa* Duch.). *Bioresource Technology*, *99*, 8507-8511. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.03.034
29. Solaimani Aghdam, M., Mostofi ,Y., Motallebiazar, A., FattahiMoghaddam, J., & Ghasemnezhad, M. 2011. Methyl salicylate affects the quality of Hayward kiwifruits during storage at low temperature. *Journal of Agricultural Science, 3*, 149-156. https://doi.org/10.5539/jas.v3n2p149
30. Stefaniak, J., Sawicka, M., Krupa, T., Latocha, P., & Lata, B. (2017). Effect of kiwiberry pre-storage treatments on the fruit quality during cold storage. *Zemdirbyste-Agriculture*, *104*(3), 235–242. https://doi.org/10.13080/z-a.2017.104.030
31. Weibel, F.P., Treutter, D., Graf, U., & Haseli, A. (2000). *Sensory and health related fruit quality of organic apples: a comparative field study over three years using conventional and holistic methods to assess fruit quality*. p.185–195. In 11th International Conference on Cultivation Technique and Psychopathological Problems in Organic Fruit growing: Proceedings of the Conference, 3-5 February 2004. Weinsberg, Germany.

32. Whortington, V. (2001). Nutritional quality of organic versus conventional fruits, vegetables, and grains. *Journal of Alternative and Complementary Medicine*, *7*, 161–173. https://doi.org/10.1089/107555301750164244
33. Willer, H., & Lernoud, J. (2020). *The World of Organic Agriculture: Statistics and Emerging Trends. Research Institute of Organic Agriculture* (FiBL). Frick, Switzerland, and International Federation of Organic Agriculture Movements (IFOAM), Bonn, Germany.
34. Zahedipour, P., Asghari, M., Abdollahi, B., Alizadeh, M., & Rezaei Danesh, Y. (2019). A comparative study on quality attributes and physiological responses of organic and conventionally grown table grapes during cold storage. *Scientia Horticulturae*, *247*, 86–95. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.11.077

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

CC BY

Research Article
Vol. 37, No. 2, Summer 2023, p. 325-336

Effect of Some Inorganic and Organic Fertilizers' Application and Drought Stress on Superoxide Dismutase and Peroxidase Activities and Total Soluble Protein of Bidane-Ghermez Grapevines

A. Fatemi[1*]- A. Safari[2]- M. Saiedi[3]- Z. Kolahchi[4]

Received: 28-10-2021 Revised: 27-12-2022 Accepted: 01-01-2023 Available Online: 01-01-2023	**How to cite this article:** Fatemi, A., Safari, A., Saiedi, M., & Kolahchi, Z. (2023). Effect of some inorganic and organic fertilizers application and drought stress on superoxide dismutase and peroxidase activities and total soluble protein of Bidane-Ghermez grapevines. *Journal of Horticultural Science, 37*(2), 325-336. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jhs.2023.73313.1102

Introduction

Drought is the most important limiting factor for the yield and quality of products in the world. Fertilizer application can mitigate drought stress in plants. Most farmers prefer to use inorganic (chemical) fertilizers because of their fast impact on plant growth. The reasonable cost of inorganic fertilizers and their availability are the other reasons. However, the long-term effects of organic fertilizers on plant growth and soil fertility has been proved. The grapevines are one of the most important garden products in the world as well as in Iran. It has been reported that the application of biochar has significant effects on soil fertility as well as plant growth. Biochars have properties such as highly porous structure, high specific surface area, higher water holding capacity of the soil, the long-term stability in the soil. In addition, our previous study indicated that it could decrease the hazard of sodium in soil compared with compost. In Iran, the cultivation area of grapevines was the second grade after the pistachio cultivation area in 2019. According to statistical data on agriculture in 2019, the cultivation area of irrigated and rain-fed grapevines in Kermanshah province was 7710 and 1515 ha, respectively. According to this report, the production of irrigated and rain-fed grapevines in Kermanshah province in 2019 was 82718 and 1763 tons, respectively. The effect of application of some inorganic and organic fertilizers under drought stress on yield, water use efficiency, and some biochemical characteristics of the grapevine leaves cultivar Bidane-Ghermez has been previously studied. In this research, the effect of drought stress and the application of potassium sulfate, compost, and biochar on antioxidant activities of the grapevine leaves cultivar Bidane-Ghermez was investigated.

Materials and Methods

A greenhouse study with a factorial experiment based on a block of randomized completely design was conducted with fertilizer treatments including control, potassium sulfate (1250 mg kg^{-1}), compost (5% w/w), and biochar (10% w/w) without and with drought stress conditions (80 and 40% FC, respectively) during 2017-2018. For this research, the biochar was produced from apple tree pruning under low oxygen conditions by slow pyrolysis at 400 °C. The compost was purchased from the municipal compost factory of Kermanshah province. To evaluate drought stress and inorganic and organic fertilizers' application on antioxidant enzymes activities, the superoxide dismutase and peroxidase activities and total soluble protein of grapevine leaves were determined. The data were analyzed by ANOVA and the mean of studied characteristics was compared by Duncan's test at 5% probability level using SAS software.

1 and 2- Assistant Professor and Graduated M.Sc. Student, Department of Soil Science, Razi University, Kermanshah, respectively.
(*- Corresponding Author Email: a.fatemi@razi.ac.ir)
3- Associate Professor, Department of Agronomy, Razi University, Kermanshah
4- Assistant Professor, Department of Soil Science, Bu Ali Sina University, Hamadan
DOI: 10.22067/jhs.2023.73313.1102

Results and Discussion

the results indicated that the interaction effect of fertilizers treatments and drought stress on the superoxide dismutase and peroxidase activities as well as total soluble protein was significant ($P<0.01$). Under drought stress conditions, among fertilizers' treatments, the activity of superoxide dismutase for potassium sulfate was significantly lower than compost and biochar treatments ($P<0.01$). The results also showed that the peroxidase activity for compost was significantly higher than potassium sulfate and biochar treatments ($P<0.01$). Besides, the highest total soluble protein amount was found for biochar treatment ($P<0.01$).

Conclusion

according to the results of this study, it can be concluded that the increase of total soluble protein of grapevine leaves under drought stress conditions by biochar application contributed to the increase of superoxide dismutase and peroxidase activities also increasing the bioavailability of macro-and micronutrients. Biochar application increased significantly the potassium concentration of the leaves of the grapevines. Potassium regulates water movement at the plant and also provides a higher relative water content of grapevine leaves. Moreover, potassium decreases the non-stomatal effects are also attributed to stomatal closure during drought stress conditions. Furthermore, potassium contributes to protein synthesis. Biochar application also increased the phosphorus, copper, and magnesium of the leaves of the grapevine. Higher concentration of phosphorus under drought stress conditions caused the grapevine leaves to suffer less from phosphorus deficiency. Copper exists in superoxide dismutase and is considered a key player in superoxide detoxification. Under drought stress conditions, higher manganese concentration by biochar application resulted in more protection of the cellular membrane against Reactive Oxygen Species (ROS). For fertilizer recommendation in order to reduce drought stress effects on some antioxidant enzymes activities of Bidane-Ghermez grapevine leaves, the application of biochar is recommended first then potassium sulfate and compost.

Keywords: Biochar, Compost, Macronutrients, Micronutrients, Potassium sulfate

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

مقاله پژوهشی
جلد ۳۷، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۲، ص. ۳۳۶-۳۲۵

تأثیر کاربرد برخی کودهای شیمیایی و آلی و تنش خشکی بر فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دسموتاز، پراکسیداز و پروتئین محلول کل در انگور رقم 'بیدانه قرمز'

اکرم فاطمی[1*] - آسیه صفری[2] - محسن سعیدی[3] - زهرا کلاه چی[4]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۸/۰۶
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۱۰/۰۶
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۱۱

چکیده

تنش خشکی یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده عملکرد و کیفیت گیاهان است. در این پژوهش تأثیر تنش خشکی و کاربرد برخی کودهای شیمیایی و آلی بر فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی اکسیدانی برگ انگور 'بیدانه قرمز' در گلخانه بررسی شد. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با تیمارهای کودی: شاهد، سولفات پتاسیم (۱۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، کمپوست (پنج درصد وزنی) و بایوچار (ده درصد وزنی) در شرایط بدون تنش و تنش خشکی (به ترتیب ۴۰ و ۸۰ درصد رطوبت ظرفیت زراعی) در چهار تکرار انجام شد. فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دسموتاز و پراکسیداز و مقدار پروتئین محلول کل برگ انگور اندازه‌گیری شدند. یافته‌ها نشان داد که اثر متقابل تنش خشکی و تیمار کودی بر فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دسموتاز و پراکسیداز و مقدار پروتئین محلول کل برگ انگور معنی‌دار بود ($P<0.01$). در شرایط تنش خشکی، بین تیمارهای کودی، فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز در تیمار سولفات پتاسیم به طور معنی‌داری کمتر از تیمارهای کمپوست (۱۹/۲ درصد) و بایوچار (۲۱/۱ درصد) بود ($P<0.01$). در شرایط تنش خشکی، فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمار کمپوست به طور معنی‌داری ($P<0.01$) بیشتر از تیمار سولفات پتاسیم (۵۰ درصد) بود و با تیمار بایوچار اختلاف معنی‌داری نداشت. بیشترین پروتئین محلول کل در تیمار بایوچار نسبت به شاهد (با افزایش دو برابری) دیده شد. افزایش پروتئین محلول کل برگ انگور با کاربرد بایوچار در شرایط تنش خشکی به افزایش فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دسموتاز و پراکسیداز و قابلیت جذب عناصر غذایی پر مصرف و کم مصرف نسبت داده شد. بنابراین به منظور توصیه کودی در شرایط مشابه از نظر نوع خاک، سن و رقم انگور و نوع بایوچار، کاربرد بایوچار سپس کمپوست و در پایان سولفات پتاسیم پیشنهاد می‌شود.

واژه‌های کلیدی: بایوچار، سولفات پتاسیم، عناصر پر مصرف، عناصر کم مصرف، کمپوست

مقدمه

انگور با نام علمی *Vitis vinifera* یکی از قدیمی‌ترین گیاهان اهلی است که آثار آن به صورت فسیل از دوران سوم زمین‌شناسی باقی‌مانده است. در ایران بیش از ۸۰۰ ژنوتیپ انگور بومی شناسایی شده است که عمدتاً متعلق به گروه آسیایی- اروپایی *V. viniferae* می‌باشند (Joseph *et al.*, 2013). از مهم‌ترین محدودیت‌های تولید در مناطق خشک و نیمه خشک تنش خشکی است. کمبود آب باعث کاهش محتوای نسبی آب در بافت‌های گیاهان (Safari *et al.*, Sorori *et al.*, 2022;2021) و محدودیت رشد در آن‌ها می‌شود. تنش خشکی علاوه بر تأثیر بر فتوسنتز (Gambetta *et al.*, 2020)، ویژگی‌های بیوشیمیایی گیاه را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهد. کاهش محتوای پروتئین در تنش خشکی با افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه

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

DOI: 10.22067/jhs.2023.73313.1102

کننده پروتئین همراه است (Haider *et al.*, 2015). تنش خشکی سبب ایجاد اختلالات متابولیسمی در سلول‌های گیاهی می‌گردد که از جمله می‌توان به افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن[1] به عنوان یکی از فاکتورهای اصلی اختلالات متابولیسمی سلول اشاره کرد (Blokhina *et al.*, 2003) که موجب کاهش اسیدهای نوکلئیک، پروتئین و چربی‌های غشایی می‌شود (Pan *et al.*, 2006). سلول‌های گیاهی برای مقابله با این خسارت به وسیله‌ی افزایش آنزیم‌های آنتی اکسیدانی مانند پراکسیداز، سوپراکسیداز و کاتالاز به تجزیه گونه‌های فعال اکسیژن می‌پردازند (Amini *et al.*, 2009, Abedi and Pakniyat, 2010, Ramzani *et al.*, 2017). سوپر اکسید دسموتازها در همه اندام‌ها وجود داشته و نقش اساسی آنها زنده نگهداشتن اندام‌ها در شرایط هوازی و حضور اکسیژن فعال می باشد. این آنزیمها بافتها را از تأثیر مخرب رادیکالهای آزاد اکسیژن (O^{-}_{2}) محافظت می‌کند (Liu *et al.*, 2012). طلایی و همکاران (Talaei *et al.*, 2011) گزارش کردند که فعالیت آنزیم پراکسیداز برگ انگور دو رقم ساهانی و بیدانه سفید که تحت تأثیر تیمارهای تنش خشکی قرار داشتند، با افزایش تنش خشکی فعالیت آن افزایش یافت.

مدیریت تغذیه گیاه در شرایط تنش خشکی یکی از مسائل مهم در تولید محصولات گیاهی محسوب می‌شود. بدون شک گیاهی که تغذیه مناسب داشته باشد، مقاومت بالاتری در برابر شرایط نامساعد محیطی خواهد داشت. در واقع بسته به میزان فراهمی آب، اضافه کردن عناصر غذایی می‌تواند باعث افزایش و یا کاهش مقاومت به تنش خشکی گردد و یا حتی بی‌تأثیر باشد (Malusà *et al.*, 2002). کشاورزان برای بهره‌برداری بیشتر از اراضی و حفظ حاصلخیزی خاک به ناچار از کودهای شیمیایی استفاده می‌کنند. این کودها از عوامل اصلی حفظ حاصلخیزی خاک و منبع مهمی از عناصر غذایی مورد نیاز گیاه محسوب می‌شوند. استفاده از کودهای آلی و شیمیایی به عنوان بهبود دهنده ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی خاک می‌تواند یکی از راهکارهای کاهش اثر نامطلوب تنش خشکی باشد (Usmani *et al.*, 2020). منابع موادآلی تنوع زیادی دارد و شامل بقایای گیاهی حاصل از فعالیت‌های زراعی، کودهای دامی و مرغی، گیاهان پوششی، مواد حاصل از زباله‌های شهری، کمپوست، بایوچار و سایر موارد مشابه می باشد. کمپوست به خاطر ویژگی‌های منحصر به فرد به عنوان ماده آلی اصلاحی برای افزایش پایداری، سلامت و بهره‌وری خاک اهمیت دارد (Xin *et al.*, 2016). کاربرد بایوچار در خاک‌های کشاورزی راه‌کار سودمندی برای بهبود و افزایش باروری خاک و دستیابی به امنیت غذایی کامل است (Biederman and Harpole, 2013). کاربرد بایوچار می‌تواند یک استراتژی مؤثر برای مدیریت باغ‌های انگور در مناطق مستعد به خشکسالی به عنوان جایگزین آبیاری تکمیلی باشد.

1- Reactive Oxygen Species

گزارش شده است که کاربرد بایوچار در شرایط مزرعه‌ای محتوای آب خاک و آب قابل‌دسترس برای انگور را افزایش داد و در سال‌های با بارندگی کم تأثیر بایوچار بیشتر بود (Hammerschmidt *et al.*, 2013;1982 Cramer *et al.*,). در مدیریت آلی، کود نیتروژنی کمتری به کار می‌رود و به همین دلیل ادعا می‌شود که مدیریت آلی کیفیت انگور را افزایش می‌دهد. کاربرد زیاد نیتروژن سبب کاهش غلظت آنتوسیانین و پتانسیل آنتی اکسیدانی انگور می‌شود. نتایج پژوهش ملوسا و همکاران (Malusà *et al.*, 2002) نشان داد که بیشترین غلظت پلی فنل ها و در نتیجه بیشترین حفاظت در برابر آنتی اکسیدانها در انگور در تیمارهای ترکیبات آلی دیده شد. رمضانی و همکاران (Ramzani *et al.*, 2017) گزارش کردند که گونه‌های فعال اکسیژن در برگ‌های تازه کینوا[2] با کاربرد کمپوست و بایوچار در مقایسه با شاهد کاهش یافت. این کاهش برای تیمار بایوچار بیشتر از کمپوست بود. فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در تیمارهای کمپوست و بایوچار بیشتر از تیمار شاهد بود. افزایش فعالیت آنتی اکسیدان‌ها در تیمار بایوچار بیشتر از کمپوست گزارش شد. سروری و همکاران (Sorori *et al.*, 2022) اثر قطع آبیاری بر ویژگیهای بیوشیمیایی ۱۸ رقم انگور را در شرایط گلخانه‌ای بررسی کردند. نتایج نشان داد که تنش خشکی باعث افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز و کاهش غلظت محتوای نسبی آب برگ، غلظت نسبی کلروفیل، کلروفیل *a*، کلروفیل *b* و کارتنوئید گردید.

با توجه به مرور منابع که در بالا بیان شد، هدف از این پژوهش بررسی اثر کاربرد کمپوست، بایوچار و سولفات پتاسیم در شرایط تنش خشکی بر فعالیت آنزیم های سوپراکسید دسموتاز و پراکسیداز و مقدار پروتئین محلول کل برگ انگور 'بیدانه قرمز' در شرایط گلخانه‌ای بود.

مواد و روش‌ها

آزمایش گلخانه‌ای: پس از زمستان گذرانی نهال‌ها در سال ۱۳۹۵، در اواسط بهمن ماه نهال‌های دو ساله به گلدان انتقال داده شدند. شاخه‌های اضافی هرس شده و تنها چهار جوانه شامل سه جوانه رویشی و یک جوانه پایه بر روی نهال باقی ماندند. نهال‌ها تا اواسط خرداد ماه ۱۳۹۶در شرایط بهینه از نظر رطوبت، فراهمی عناصر غذایی و مبارزه با آفات نگهداری شدند. برای این منظور، آبیاری به صورت کامل انجام شد. در فواصل زمانی ۲۰ روز یک بار برای رفع کنه تارتن و تریپس حشره‌کش ایمیدوکلروپراید[3] به مقدار یک در هزار اضافه شد. همچنین برای رفع سفیدک قارچی از سم هگزاکونازول[4] به مقدار ۲ میلی لیتر در پنج لیتر آب مقطر استفاده شد. سم آبامکتین[5] به

2- Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.)
3- Imidia SC35%
4- Hexaconazole
5- Abamectin

مقدار یک در هزار برای دفع شته بـه کـار رفـت. اواسـط خـرداد مـاه ۱۳۹۶، آزمایش گلخانه‌ای انجام شد. این پژوهش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار بر نهال‌های دو ساله انگور رقم 'بیدانه قرمز' انجام شد. گلدان‌هـای ده کیلـوگرمی بـا هشت کیلوگرم خاک سطحی (تا عمق ۳۰ سـانتی‌متـری) بـاغ پسـته پردیس کشاورزی دانشگاه رازی پـر شـدند. ویژگـی‌هـای فیزیکـی و شیمیایی آن شامل بافت بـه روش هیـدرومتر، pH و قابلیـت هـدایت الکتریکی در نسبت خاک به آب ۱:۲/۵، ظرفیـت تبـادل کـاتیونی بـه روش استات سدیم با pH=۸/۲، کربنات کلسیم، کربن آلی، فسفر قابل جذب به روش اولسن، کلسیم و منیزیم قابل جذب عصاره گیری شده با استات آمونیوم ۱ نرمال و خنثی به روش تیتراسیون، پتاسیم و سدیم قابل جذب عصاره گیری شده بـا اسـتات آمونیـوم ۱ نرمـال و خنثـی، نیتروژن کل با روش کجلدال و عناصر کم مصرف شامل آهـن، روی، مس و منگنز با DTPA عصاره‌گیری و غلظت آنها با دسـتگاه جـذب اتمی اندازه‌گیری شد (Sparks *et al.*, 2020). بافت خاک لـومرسی سیلتی، با واکنش خنثی و بـدون شـوری (قابلیـت هـدایت الکتریکـی ۰/۶۰ دسی‌زیمنس بر متر) بود. درصد کربن آلی و درصد نیتروژن کـل خاک همچنین غلظت برخی عناصر غـذایی خـاک در جـدول ۱ آمـده است.

تیمارهای کودی شامل شاهد (عدم مصرف کود)، سولفات پتاسیم (۱۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلـوگرم خـاک گلـدان) بـه عنـوان تیمـار کـود شیمیایی، کاربرد پنج درصد وزنی کود کمپوست زباله شـهری (معـادل ۴۰۰ گرم در گلدان) و ده درصد وزنی بایوچار (۸۰۰ گرم در گلدان) بـه عنوان کودهای آلی بود. کمپوست زباله شهری از کارخانـه کمپوسـت سازی کرمانشاه خریداری شده و بایوچار از سرشاخه‌های درخت سیب در شرایط با اکسیژن کم در کوره فلزی با دمای ۴۰۰ درجه سانتی‌گراد تولید شد. ویژگی‌های شیمیایی کمپوست و بایوچار به کار رفته در این پژوهش با روش‌های معمـول (Davoudi, 2015) انـدازه‌گیـری و در جدول ۲ گزارش شده است.

جدول ۱- برخی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاک مورد استفاده در آزمایش

Table 1- Some physicochemical characteristics of studied soil

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

* و ** نسبت خاک به آب در عصاره

جدول ۲- ویژگی‌های شیمیایی کودهای آلی (کمپوست و بایوچار) مورد استفاده در آزمایش

Table 2- Chemical characteristics of compost and biochar used in the experiment

نوع کودآلی Type of organic fertilizer	pH$_{(1:10)}$	EC$_{(1:10)}$	کربن آلی (OC)	N	P	K	Fe	Zn	Cu	Mn
		(dS.m^{-1})	(%)				(mg.kg^{-1})			
کمپوست زباله شهری (Municipal solid waste compost) MSWC	7.96	3.90	14.20	1.46	0.57	1.41	10735	327	275	290
بایوچار Biochar	8.44	3.40	30.00	0.28	0.53	0.53	1325	67.50	42	95

در ابتدای تیر ماه ۱۳۹۶ بر اساس رطوبت ظرفیـت زراعـی خـاک (۴۰ درصد) تیمارهای تنش خشکی اعمال شد کـه بـه مـدت دو مـاه ادامه داشت. برای ایـن منظـور دو سـطح آبیـاری نرمـال (۸۰ درصـد ظرفیت زراعی یا FC) و تـنش خشـکی (۴۰ درصـد FC) بـر اسـاس رطوبت وزنی گلدان در نظر گرفته شد. رطوبت وزنـی خـاک در طـول دوره آزمایش با توزین روزانه در رطوبت‌هـای مـورد نظـر ثابـت نگـه داشته شد. نمونه‌برداری برگ از جوان‌ترین بـرگ‌هـای کـاملاً توسـعه یافته صورت گرفت. نمونه‌های برگی بلافاصله به نیتروژن مایع انتقال یافت و برای اندازه‌گیری‌های ویژگی‌های بیوشیمیایی تا زمـان انجـام آزمایش‌ها در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز: فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز با اندازه‌گیری سرعت احیاء نیترو بلـو تترازولیـوم (NBT)[1] در

1- Nitro Blue Tetrazolium

طول موج ۵۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیمی بر حسب واحد آنزیم در مقدار پروتئین (بر حسب میلی‌گرم) موجود در عصاره بیان شد. یک واحد آنزیم به عنوان مقدار آنزیمی در نظر گرفته شد که از احیاء ۵۰ درصد NBT در شرایط ارزیابی جلوگیری می‌کند (Beers and Sizer, 1952).

فعالیت آنزیم پراکسیداز: فعالیت آنزیم پراکسیداز با اندازه‌گیری میزان جذب گایاکول[1] تشکیل شده در نتیجه فعالیت پراکسیداز، در طول موج ۴۷۰ نانومتر تعیین شد. فعالیت آنزیم بر حسب واحد بر میلی‌گرم پروتئین با استفاده از ضریب خاموشی $mM^{-1}.cm^{-1}$ ۲/۸ محاسبه شد (Haider *et al.*, 2015).

تعیین پروتئین محلول کل: غلظت پروتئین محلول کل با اندازه‌گیری جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۹۵ نانومتر و با استفاده از سرم آلبومین گاوی به عنوان استاندارد اندازه‌گیری شد (Candan and Tarhan, 2003).

تجزیه و تحلیل آماری: داده‌ها با نرم‌افزار SAS تجزیه و تحلیل و میانگین داده‌ها نیز به روش آزمون دانکن و در سطح احتمال پنج درصد مقایسه شدند.

نتایج و بحث

اثرات متقابل تنش خشکی و تیمارهای کودی بر فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دسموتاز و پراکسیداز

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل تیمار تنش خشکی و تیمارهای کودی بر آنزیم سوپراکسید دسموتاز برگ انگور معنی‌دار ($P<0.05$) بود (جدول ۳). در شرایط بدون تنش خشکی، بیشترین فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز برای تیمار شاهد و کمترین مقدار برای تیمارهای کمپوست و بایوچار به‌دست آمد. در شرایط تنش خشکی، فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز در تیمارهای کودی به طور معنی‌داری کمتر از تیمار شاهد به دست آمد. در بین تیمارهای کودی، فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز در تیمار سولفات پتاسیم به طور معنی‌داری کمتر از تیمارهای کمپوست و بایوچار بود (شکل ۱). فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز در تیمار سولفات پتاسیم در شرایط بدون تنش خشکی و تنش خشکی اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند (شکل ۱).

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل تنش خشکی و تیمارهای کودی بر فعالیت آنزیم پراکسیداز برگ انگور ($P<0.01$) معنی‌دار بود (جدول ۳). در شرایط بدون تنش خشکی، بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمار شاهد و کمترین مقدار در تیمار

1- Guaiacol

سولفات پتاسیم مشاهده شد. در شرایط تنش خشکی، فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمارهای کودی به طور معنی‌داری کمتر از تیمار شاهد بود. در بین تیمارهای کودی، فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمارهای سولفات پتاسیم و بایوچار با هم اختلاف معنی‌داری نداشت. فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمار کمپوست به طور معنی‌داری بیشتر از تیمارهای سولفات پتاسیم و بایوچار بود (شکل ۲). فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمارهای سولفات پتاسیم و بایوچار در شرایط تنش خشکی با فعالیت این آنزیم در تیمار سولفات پتاسیم در شرایط بدون تنش خشکی اختلاف معنی‌داری نداشت. کودهای آلی با کلات کردن عناصر ضروری سبب افزایش جذب عناصر غذایی گیاه می‌شوند و کاربرد آنها بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و در نتیجه مقدار پروتئین محلول گیاه اثرگذار است (Joseph *et al.*, 2013). لیو و همکاران (Liu *et al.*, 2012) گزارش کردند که در شرایط تنش خشکی با کاربرد بایوچار فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و سوپراکسید دسموتاز گیاه نسبت به شاهد افزایش یافت. محمدی ترکاشوند و همکاران (Mohammadi Torkashvand *et al.*, 2018) در بررسی اثر تنش خشکی و غلظت‌های پتاسیم در محلول غذایی گزارش کردند که فعالیت پراکسیداز در برگ‌های سوسن در محلول غذایی با ۱۲ میلی‌مولار پتاسیم به‌طور معنی‌داری نسبت به شرایط بدون پتاسیم کمتر بود. عثمانی و همکاران (Usmani *et al.*, 2020) گزارش کردند که در شرایط تنش خشکی با کاربرد سولفات پتاسیم فعالیت آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز و سوپراکسید دسموتاز برگ ذرت افزایش یافت. صیدی و همکاران (Siedi *et al.*, 2022) در آزمایشی گلخانه‌ای اثر تنش خشکی بر برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی پنج رقم انگور روسی و دو رقم ایرانی (چفته و بیدانه سفید) را بررسی کردند. نتایج نشان داد کاهش میزان آب آبیاری نسبت به شاهد، باعث افزایش معنی‌دار فعالیت آنتی اکسیدانی آسکوربیک پراکسیداز، پراکسیداز هیدروژن، پراکسیداز، پرولین، قند محلول و گایاکول پراکسیداز گردید.

اثر متقابل تنش خشکی و تیمارهای کودی بر پروتئین محلول کل برگ انگور

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل تنش خشکی و تیمارهای کودی بر پروتئین محلول کل برگ انگور معنی‌دار بود ($P<0.01$) (جدول ۳). در شرایط بدون تنش خشکی بیشترین مقدار پروتئین محلول کل (۰/۶۲ میلی‌گرم برگرم) در تیمار کمپوست دیده شد. مقدار پروتئین محلول کل برگ در تیمار بایوچار ۰/۵۸ میلی‌گرم برگرم به دست آمد. مقدار پروتئین محلول کل برگ در تیمارهای آلی به طور معنی‌داری بیشتر از تیمار سولفات پتاسیم بود. در شرایط تنش خشکی کمترین مقدار پروتئین محلول کل (۰/۱۱ میلی گرم برگرم) در تیمار شاهد به‌دست آمد.

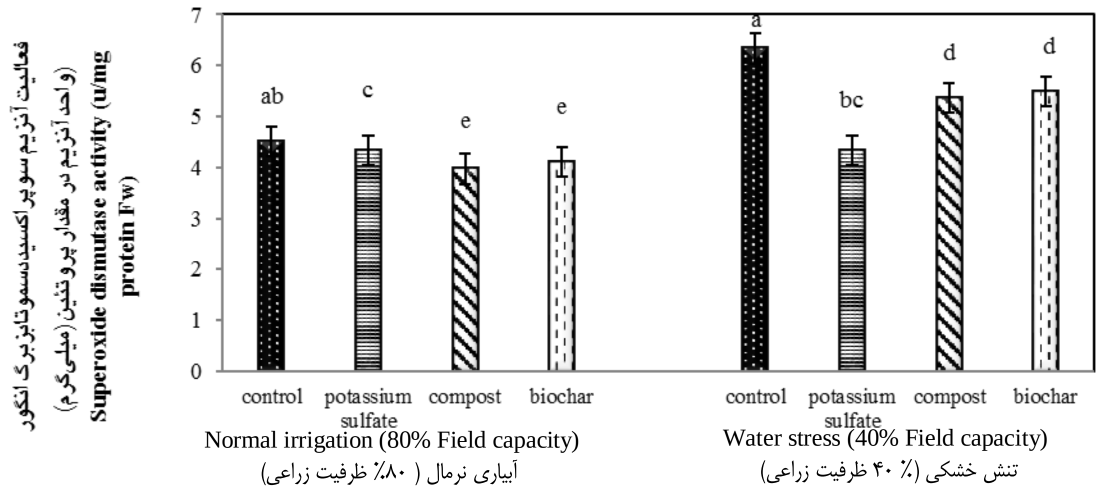
جدول ۳- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) پروتئین محلول کل، فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دسموتاز و پراکسیداز در برگ انگور رقم 'بیدانه قرمز' در تیمارهای کودی مختلف در شرایط تنش خشکی

Table 3- ANOVA (mean squares) of total soluble protein, superoxide dismutase and peroxidase activities of grapevine leaves cv. 'Bidane Ghermez' in different fertilizer treatments under drought stress conditions

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	پروتئین محلول کل Total soluble protein	سوپراکسید دسموتاز Superoxide dismutase activity	پراکسیداز Peroxidase activity
بلوک (Block)	3	0.00	9.93^{ns}	12.38**
تنش خشکی (Drought stress)	1	0.33**	3927.10**	507.75**
کود (Fertilizer)	3	0.14**	7824.33**	397.94**
تنش خشکی ×کود (Drought stress fertilizer)	3	0.03**	395.53*	85.15**
خطا (Error)	21	0.00	91.84	5.61
ضریب تغییرات (CV)		7.36	10.66	10.91

*و ** و ns به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال پنج و یک درصد و عدم معنی‌داری

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

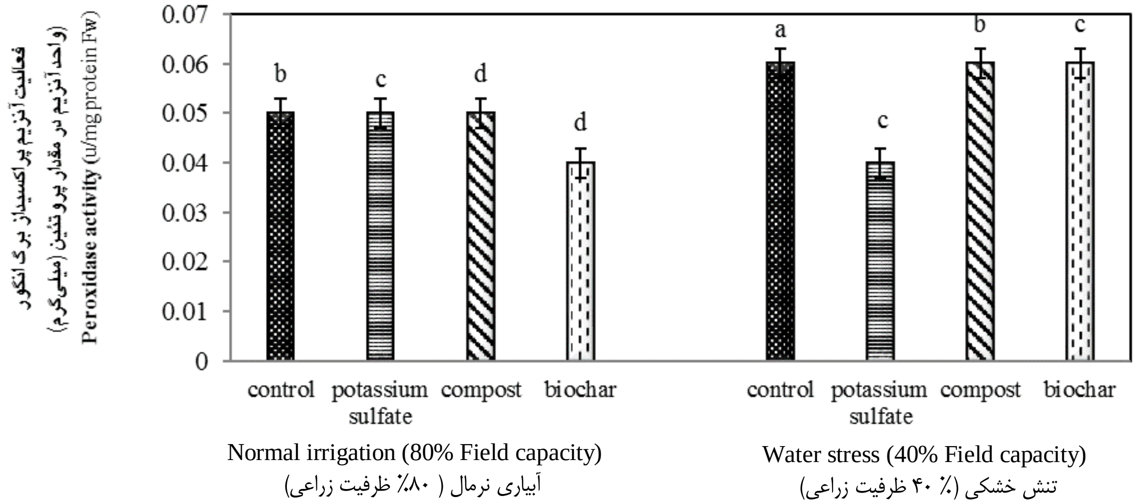


شکل ۱- اثر متقابل تنش خشکی × تیمار کودی بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز برگ انگور رقم 'بیدانه قرمز'

Figure 1- Interaction effect of drought stress× fertilizer treatments on superoxide dismutase activity of grapevine cv. 'Bidane Ghermez' leaves (DMRT, *p≤0.05*)

در شرایط تنش خشکی بیشترین مقدار پروتئین محلول کل (۰/۳۳ میلی‌گرم برگرم) در تیمار بایوچار دیده شد. مقدار پروتئین محلول کل برگ در تیمارهای کمپوست و سولفات پتاسیم اختلاف معنی‌داری نداشت (شکل ۳). در پژوهش های قبل، کاهش مقدار پروتئین در شرایط تنش خشکی را با افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه کننده پروتئین مانند پروتئازها مربوط می‌دانستند (Siosemardeh *et al*., 2014, Conesa *et al*., 2016). ردی و همکاران (Reddy *et al*., 2004) با مرور یافته‌های پیشین بیان کردند که در شرایط تنش، برخی اثرات غیر روزنه‌ای همچون فسفریلاسیون نوری، بازسازی ریبولوز بی فسفات، فعالیت روبیسکو و ساخت ATP به بسته شدن روزنه‌ها مربوط می‌باشند. سی و سه مرده و همکاران (Siosemardeh *et al*., 2003) گزارش کردند که تنش خشکی باعث کاهش هدایت مزوفیلی، فتوسنتز، محتوای پروتئین و مقدار کلروفیل برگ گندم شد. مطالعه کرامر و همکاران (Cramer *et al*., 2013) بر سر شاخه های انگور در معرض تنش خشکی نشان داد که تنش خشکی در بسیاری از پروتئین های تاثیر گذار در سوخت و ساز، انرژی (فتوسنتز، گلیکولیز و تنفس)، دفاع آنتی اکسیدانی و سرنوشت پروتئین (ساخت پروتئین، تاخوردگی و تغییر) نقش دارند. آنها همچنین گزارش کردند که در واکنش به تنش، تغییرات اولیه در فراوانی پروتئین به دلایل کاهش فتوسنتز، انتقال کربن، رشد و سوخت ساز کربن اتفاق می افتد

که ممکن است متأثر از فسفریلاسیون باشد. همچنین مشخص شده است که تنظیم بسیاری از دیگر پروتئین‌ها با گونه‌های فعال اکسیژن و سیگنال فردوکسین-تیوردوکسین می باشد (Cramer *et al.*, 2013).

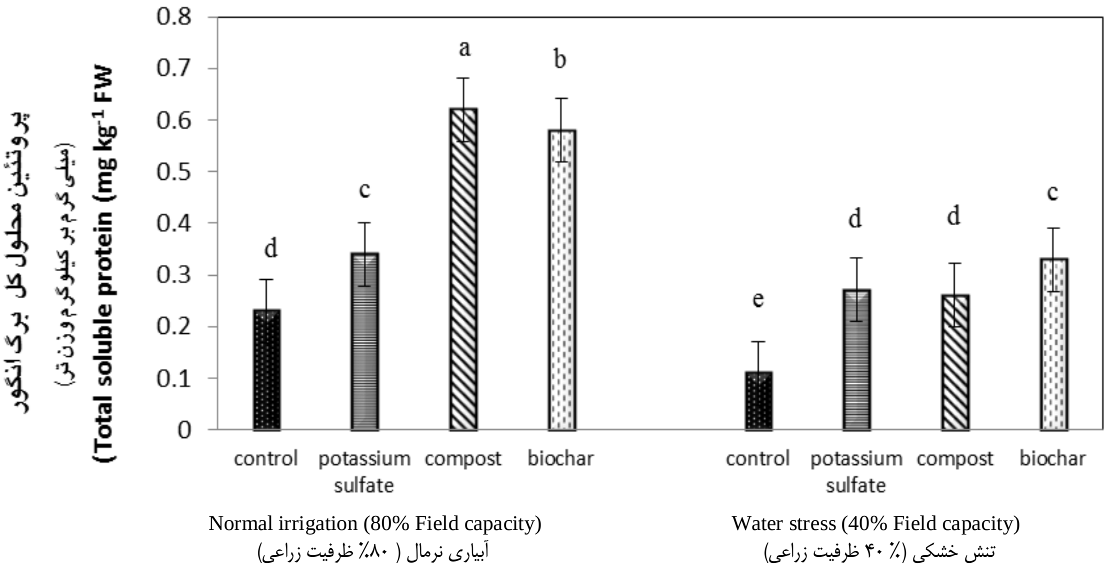


شکل ۲- اثرات متقابل تنش خشکی ×تیمار کودی بر فعالیت آنزیم پراکسیداز برگ انگور رقم 'بیدانه قرمز'.

Figure 2- Interaction effect of drought stress× fertilizer treatments on peroxidase activity of grapevine cv. 'Bidane Ghermez' leaves (DMRT, *p≤0.05*)

اما در اینجا به نظر می‌رسد که مقدار پروتئین های محلول کل برگ انگور تنها متأثر از فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دسموتاز و پراکسیداز در اثر تنش خشکی نمی‌باشد. چرا که در شرایط تنش خشکی فعالیت آنزیم سوپر اکسید دسموتاز در تیمارهای آلی با هم اختلاف معنی‌دار نداشت و کمتر از تیمار سولفات پتاسیم بود (شکل ۱). همچنین در شرایط تنش خشکی فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمارهای بایوچار و سولفات پتاسیم با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند و میزان آنها از تیمار کمپوست زباله شهری کمتر بود (شکل ۲). مقدار پروتئین محلول کل برگ در تیمار بایوچار به طور معنی‌داری بیشتر از تیمارهای کمپوست زباله شهری و سولفات پتاسیم ($P>0.05$) به‌دست آمد. حیدر و همکاران (Haider *et al.*, 2015) گزارش کردند که کاربرد بایوچار در شرایط تنش خشکی باعث افزایش تراکم روزنه‌ها، محتوای کلروفیل، فتوسنتز و بهبود سنتز پروتئین گیاه می‌شود. بنابر این یافته‌ها تنها با در نظر گرفتن فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی بر مقدار پروتئین نمی‌توان به نتیجه‌ای قطعی رسید و بایستی به عوامل دیگر هم توجه کرد. مقاله حاضر بخشی از پژوهش انجام شده درباره اثر کاربرد برخی کودهای شیمیایی و آلی بر ویژگی های تغذیه‌ای و بیوشیمیایی برگ انگور رقم 'بیدانه قرمز' در شرایط تنش خشکی می‌باشد (Safari, 2018). در ادامه به برخی نتایج پژوهش نامبرده برای تفسیر بهتر یافته‌های مقاله حاضر پرداخته می-شود. نتایج بررسی برخی تغییرات بیوشیمیایی برگ انگور نشان داد که محتوای رطوبت نسبی، غلظت کلروفیل *a* و کارتنوئید برگ بین تیمارهای کودی اختلاف معنی‌داری نداشت. افزایش نسبت کلروفیل *a* به *b* به ترتیب در تیمارهای بایوچار، سولفات پتاسیم و کمپوست در مقایسه با تیمار شاهد تغییر کرد (Safari *et al.*, 2021). میزان کلروفیل کل و نسبت کلروفیل *a* به کلروفیل *b* از جمله ویژگی‌های هستند که تحت تأثیر غلظت کلسیم برگ هستند. افزایش غلظت کلسیم در طول دوره رشد گیاه موجب افزایش محتوای کلروفیل و افزایش نسبت کلروفیل *a* به کلروفیل *b* می‌شود. همچنین افزایش غلظت کلسیم سبب حفاظت از کلروفیل *a* و جلوگیری از کاهش نسبت کلروفیل *a* به کلروفیل *b* و مانع رنگ زدایی از کلروفیل *a* در سیستم نوری I می شود (Siosemardeh *et al.*, 2003). با کاربرد کودهای مورد مطالعه غلظت کلسیم برگ به طور معنی‌داری ($P<0.01$) در مقایسه با تیمار شاهد افزایش یافت (Safari *et al.*, 2020). صفری و همکاران (Safari *et al.*, 2021) همچنین گزارش کردند که در شرایط تنش خشکی سرعت فتوسنتز تیمارهای آلی از تیمار سولفات پتاسیم بیشتر بود. سرعت فتوسنتز تیمار بایوچار به طور معنی‌داری از تیمار کمپوست بیشتر بود. همچنین در شرایط تنش خشکی هدایت روزنه‌ای برگ در کلیه تیمارهای کودی (به استثنای تیمار بایوچار) در مقایسه با شرایط بدون تنش خشکی کاهش یافت. از آنجایی که با کاربرد بایوچار در مقایسه با کمپوست و سولفات پتاسیم غلظت فسفر، پتاسیم، منیزیم و مس برگ انگور به طور معنی‌داری

بیشتر بود، نسبت کروفیل a به b و وزن خشک در شرایط تنش خشکی در مقایسه با شرایط بدون کاربرد کود بهبود یافت (Safari *et al.*, 2021). بنابراین، علاوه بر عوامل گفته شده، ضرورت دارد که به نقش و غلظت عناصر غذایی پر مصرف و کم مصرف با کاربرد تیمارهای کودی در شرایط تنش خشکی هم توجه کرد.



شکل ۳- اثر متقابل تنش خشکی × تیمار کودی بر پروتئین محلول کل برگ انگور رقم 'بیدانه قرمز'

Figure 3- Interaction effect of drought stress ×fertilizer treatments on the total soluble protein in grapevine cv. 'Bidane Ghermez' leaves (DMRT, *p≤0.05*)

کاربرد عناصر پرمصرف مانند نیتروژن، پتاسیم وکلسیم، سمیّت گونه‌های فعال اکسیژن را بواسطه افزایش فعالیت آنزیم های آنتی‌اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز کاهش می‌دهد. این آنزیم ها، گونه‌های فعال اکسیژن را بازیابی می‌کنند و واکنشهای اکسیداسیون نوری را کاهش می‌دهند و در نتیجه موجب حفظ پایداری غشای کلروپلاست می‌شوند (Van den Berg and Zeng, 2006). یون های فلزی مانند آهن، روی، منگنز، گوگرد و کلسیم و منیزیم به عنوان کوفاکتور در ساختمان بسیاری از آنزیم‌های آنتی اکسیدانی نقش دارند و باعث مقاومت گیاه در برابر تنش خشکی می‌شوند. فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، مالون دی آلدهید، لیپید پراکسیداز، سوپراکسید دسموتاز، پراکسیداز و کاتالاز در حضور عناصر کم مصرف و برخی عناصر پر مصرف در گیاه افزایش پیدا می‌کنند (Castrillo and Trujillo, 1994). افزایش فعالیت آنزیم‌ها مقاومت گیاهان در شرایط تنش‌های محیطی را افزایش می‌دهد. با کاهش غلظت عناصر غذایی در گیاه فعالیت آنزیم‌هایی همچون سوپراکسید دسموتاز و پراکسیداز افزایش می‌یابد (Castrillo and Trujillo, 1994). آهن، منگنز یا مس جزء فلزی آنزیم‌های سوپراکسید دسموتاز را تشکیل می‌دهند. میزان عمده سوپراکسید دسموتاز آهن (FeSOD) در کلروپلاست قرار دارد. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز مس- روی (CuZnSOD) برای مقایسه کارایی روی در غلات استفاده شده است. سوپر اکسید دسموتاز منگنز در برخی از گونه‌های گیاهی وجود دارد. گروه «هم» گروه پروستتیک آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و سیتوکروم اکسیداز را تشکیل می‌دهد. گروه «هم» یک پورفیرین آهن است. در شرایط کمبود آهن فعالیت کاتالاز و پراکسیداز کاهش می یابد (Khoshgoftarmanesh, 2014). یکی از آنزیم‌های اختصاصی منگنز در کلروپلاست RNA پلیمراز می‌باشد. با وجود نقش منگنز در فعال کردن آنزیم RNA پلیمراز، پروتئین سازی بافتهای دچار کمبود مختل نمی‌شود. مقدار پروتئین در گیاهان دچار کمبود مشابه یا حتی بیشتر از گیاهان با منگنز کافی است. نقش منگنز در سوخت و ساز لیپید پیچیده‌تر است. در گیاهان مبتلا به کمبود منگنز نه تنها مقدار کلروفیل بلکه گلیکولیپیدها و اسیدهای چرب غیر اشباع غشاء تیلاکوئیدی تا ۵۰ درصد کاهش می یابد. به سبب نقش پتاسیم در ساخت پروتئین، در گیاهان مبتلا به کمبود این عنصر، مقدار زیادی اسیدهای آمینه، آمیدها و نیترات انباشته می‌شود. مقدار پتاسیم مورد نیاز برای فعال سازی آنزیم ها بسیار کمتر از ساخت پروتئین هاست (Khoshgoftarmanesh, 2014).

با وجود اینکه غلظت پتاسیم کمپوست بسیار بیشتر از بایوچار بود (جدول ۱)، قابلیت جذب پتاسیم آن کمتر از بایوچار بود. علت آن به برهمکنش سدیم و پتاسیم ارتباط دارد. صفری و همکاران (Safari *et*

al., 2020) گزارش کردند که با کاربرد سولفات پتاسیم و کمپوست در مقایسه با شاهد سدیم قابل جذب خاک به ترتیب ۸/۵۳ و ۶۰/۵۲ درصد افزایش یافت. در حالی که با کاربرد بایوچار سدیم خاک ۳/۷۳ درصد در مقایسه با شاهد کاهش یافت.

نتایج این پژوهش نشان داد که کاربرد کودهای سولفات پتاسیم، کمپوست و بایوچار بر فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دسموتاز و پراکسیداز و مقدار پروتئین محلول کل برگ انگور 'بیدانه قرمز' در شرایط تنش خشکی اثر معنی‌داری داشت. در شرایط تنش خشکی، فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز در تیمارهای آلی کمتر از تیمار شیمیایی به دست آمد. همچنین فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمارهای بایوچار و سولفات پتاسیم کمتر از تیمار کمپوست بود. در حالی‌که مقدار پروتئین محلول کل برگ انگور با کاربرد بایوچار بیشتر ازتیمارهای کمپوست و سولفات پتاسیم بود. علت مقدار بیشتر پروتئین محلول کل با کاربرد بایوچار به این دلیل می‌باشد که در مقایسه با کاربرد سولفات پتاسیم و کمپوست، غلظت فسفر، پتاسیم، منیزیم و مس برگ انگور به طور معنی‌داری بیشتر بوده (Safari et al., 2020)، در نتیجه نسبت کروفیل *a* به *b* برگ انگور در شرایط تنش خشکی بیشتر به دست آمد (Safari et al., 2021). تنش خشکی منجر به بسته شدن روزنه‌ها و محدودیت ورود دی اکسید کربن به سلول و به دنبال آن تجمع گونه‌های اکسیژن فعال می‌شود. بنابراین فتوسنتز، اسیدهای نوکلئیک، پروتئین و چربی‌های غشایی کاهش می‌یابند (Mohammadi Torkashvand et al., 2018). پتاسیم از یک سو در ساخت پروتئین نقش دارد و از سوی دیگر، با تنظیم روابط آبی گیاه در شرایط تنش خشکی، خسارت تنش خشکی را کاهش می‌دهد. به بیان دیگر، با کاربرد بایوچار عوامل غیر روزنه‌ای مرتبط با بسته شدن روزنه‌ها کمتر دچار اختلال می‌شوند. در شرایط تنش خشکی سرعت فتوسنتز تیمار بایوچار به طور معنی‌داری از تیمار کمپوست و سولفات پتاسیم بیشتر بود (Safari et al., 2022). همچنین غلظت بیشتر فسفر برگ انگور در شرایط تنش خشکی سبب می‌شود که گیاه کمتر دچار کمبود فسفر باشد. در شرایط تنش خشکی، بیشترین غلظت مس برگ انگور در تیمار بایوچار دیده شد (Safari et al., 2020). اتم مس در آنزیم سوپراکسید دسموتاز به طور مستقیم در سمیت زدایی سوپراکسید تولید شده در طی فتوسنتز نقش دارد. با افزایش قابلیت جذب منگنز با کاربرد بایوچار، ساختمان غشاء در برابر آسیب گونه‌های اکسیژن فعال بهتر حفظ شده است. به منظور توصیه کودی برای انگور رقم 'بیدانه قرمز' در شرایط تنش خشکی می‌توان چنین جمع‌بندی کرد. بر اساس یافته‌های این پژوهش کاربرد بایوچار در درجه اول توصیه می‌شود. بین کودهای سولفات پتاسیم و کمپوست به دلیل اثرات طولانی مدت کاربرد کودهای آلی بر ویژگی‌های شیمیایی خاک و رهاسازی تدریجی عناصر مورد نیاز گیاه (Safari et al., 2020)، کاربرد کمپوست توصیه می‌شود. در پژوهش نامبرده شده، کاهش قابلیت جذب پتاسیم خاک با کاربرد کمپوست با وجود غلظت زیاد پتاسیم آن، به افزایش سدیم تبادلی خاک ارتباط داده شد. بنابراین، برای کاهش اثرات منفی سدیم بر خاک پس از کاربرد کمپوست می‌توان کمپوست را با بایوچار به صورت تلفیقی به خاک اضافه نمود.

سپاسگزاری

از جناب آقای مهندس ارسلان احمدی برای ارائه مشاوره‌های ارزشمند در زمینه باغبانی صمیمانه سپاسگزاریم.

منابع

1. Abedi, T., & Pakniyat, H. (2010). Antioxidant enzymes changes in response to drought stress in ten cultivars of oilseed rape (Brassica napus L.). *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, *46*(1), 27-34. http://dx.doi.org/10.17221/17267/12009-CJGPB
2. Amini, Z., Hadad, R., & Moradi, F. (2009). The effect of water deficit stress on antioxidant enzymes during generative growth stages in barley (Hordeum vulgare L.). *Isfahan University of Technology-Journal of Crop Production and Processing*, *12*(46), 65-74. (In Persian)
3. Beers, R.F., & Sizer, I.W. (1952). A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *Journal of Biology Chemistry*, *195*(1), 133-140. http://dx.doi.org/110.1016/S0021-9258(1019)50881-X
4. Biederman, L.A., & Harpole, W.S. (2013). Biochar and its effects on plant productivity and nutrient cycling: a meta-analysis. *GCB Bioenergy*, *5*(2), 202-214. http://dx.doi.org/210.1111/gcbb.12037
5. Blokhina, O., Virolainen, E., & Fagerstedt, K.V. (2003). Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Annals of Botany*, *91*(2), 179-194. http://dx.doi.org/110.1093/aob/mcf1118
6. Candan, N., & Tarhan, L. (2003). The correlation between antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation levels in Mentha pulegium organs grown in Ca^{2+}, Mg^{2+}, Cu^{2+}, Zn^{2+} and Mn^{2+} stress conditions. *Plant Science*, *165*(4), 769-776. http://dx.doi.org/710.1016/S0168-9452(1003)00269-00263
7. Castrillo, M., & Trujillo, I. (1994). Ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase activity and chlorophyll and protein contents in two cultivars of French bean plants under water stress and rewatering. *Photosynthetica*, *30*, 175-181.

8. Conesa, M., De La Rosa, J., Domingo, R., Banon, S., & Pérez-Pastor, A. (2016). Changes induced by water stress on water relations, stomatal behaviour and morphology of table grapes (cv. Crimson Seedless) grown in pots. *Scientia Horticulturae*, *202*, 9-16. http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2016.1002.1002
9. Cramer, G.R., Van Sluyter, S.C., Hopper, D.W., Pascovici, D., Keighley, T., & Haynes, P.A. (2013). Proteomic analysis indicates massive changes in metabolism prior to the inhibition of growth and photosynthesis of grapevine (*Vitis vinifera* L.) in response to water deficit. *BMC Plant Biology*, *13*(1), 1-22. https://doi.org/10.1186/1471-2229-1113-1149
10. Davoudi, M.H., Shahbazi, K., Feizollahzadeh Ardebil, M. & Rezaie, H. (2015). *Methods of organic fertilizers' analysis*. Soil and Water Research Institute, Technical publication No. 531. (In Persian).
11. Gambetta, G.A., Herrera, J.C., Dayer, S., Feng, Q., Hochberg, U., & Castellarin, S.D. (2020). The physiology of drought stress in grapevine: towards an integrative definition of drought tolerance. *Journal of Experimental Botany*, *71*(16), 4658-4676. http://dx.doi.org/4610.1093/jxb/eraa4313
12. Haider, G., Koyro, H.-W., Azam, F., Steffens, D., Müller, C., & Kammann, C. (2015). Biochar but not humic acid product amendment affected maize yields via improving plant-soil moisture relations. *Plant and Soil*, *395*(1), 141-157. http://dx.doi.org/110.1007/s11104-11014-12294-11103
13. Hammerschmidt, R., Nuckles, E. & Kuć, J. (1982). Association of enhanced peroxidase activity with induced systemic resistance of cucumber to Colletotrichum lagenarium. *Physiological Plant Pathology*, *20*(1), 73-82. http://dx.doi.org/10.1016/0048-4059(1082)90025-X
14. Joseph, S., Graber, E., Chia, C., Munroe, P., Donne, S., Thomas, T., Nielsen, S., Marjo, C., Rutlidge, H., & Pan, G.-X. (2013). Shifting paradigms: development of high-efficiency biochar fertilizers based on nano-structures and soluble components. *Carbon Management*, *4*(3), 323-343. http://dx.doi.org/310.4155/cmt.4113.4123
15. Khoshgoftarmanesh, A.H. (2014). *Principles of Plant Nutrition*, Isfahan University of Technology press.
16. Liu, J., Schulz, H., Brandl, S., Miehtke, H., Huwe, B., & Glaser, B. (2012). Short-term effect of biochar and compost on soil fertility and water status of a Dystric Cambisol in NE Germany under field conditions. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, *175*(5), 698-707. http://dx.doi.org/610.1002/jpln.201100172
17. Malusà, E., Laurenti, E., Ghibaudi, E., & Rolle, L. (2002). *Influence of organic and conventional management on yield and composition of grape cv.'Grignolino'*. XXVI International Horticultural Congress: Viticulture-Living with Limitations 640.
18. Mohammadi Torkashvand, A., Tofighi Alikhani, T., Kaviani, B., & Ghasemnejad, M. (2018). Impact of potassium on the yield of lily (*Lilium longifolium*× *Asiatic* cv. Termoli) and antioxidant enzymes activity under drought stress. *Journal of Plant Process and Function*, *7*(25), 29-38.
19. Pan, Y., Wu, L.J. & Yu, Z.L. (2006). Effect of salt and drought stress on antioxidant enzymes activities and SOD isoenzymes of liquorice (Glycyrrhiza uralensis Fisch). *Plant Growth Regulation*, *49*(2), 157-165. http://dx.doi.org/110.1007/s10725-10006-19101-y
20. Ramzani, P.M.A., Shan, L., Anjum, S., Ronggui, H., Iqbal, M., Virk, Z.A., & Kausar, S. (2017). Improved quinoa growth, physiological response, and seed nutritional quality in three soils having different stresses by the application of acidified biochar and compost. *Plant Physiology and Biochemistry*, *116*, 127-138. http://dx.doi.org/110.1016/j.plaphy.2017.1005.1003
21. Reddy, A.R., Chaitanya, K.V., & Vivekanandan, M. (2004). Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *Journal of Plant Physiology*, *161*(11), 1189-1202. http://dx.doi.org/1110.1016/j.jplph.2004.1101.1013
22. Safari, A. (2018). *Comparison of compost, biochar and potassium application on grapes properties under drought stress*. M.Sc. Razi University.
23. Safari, A., Fatemi, A., Saiedi, M., & Kolahchi, Z. (2020). Effect of fertilizer management systems and water stress conditions on nutritional status of grapes (a greenhouse study). *Journal of Soil Management and Sustainable Production*, *10*(1), 119-136 (In Persian with English abstract).
24. Safari, A., Fatemi, A., Saiedi, M., & Kolahchi, Z. (2022). Effect of drought stress on water use efficiency of grapevines (Vitis vinifera L.) cultivar 'Bidaneh-Ghermez' under different fertilizer treatments. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology), 35(4), 836-847.* (In Persian with English abstract).
25. Safari, A., Fatemi, A., Saiedi, M., & Kolahchi, Z. (2021). Some biochemical characteristic changes of grapevine 'Bidane-Ghermez'Influenced by drought stress using organic and inorganic fertilizers. *Journal of Horticultural Science*, *35*(2), 267-281. (In Persian with English abstract)
26. Siedi, A., Seifi, E., & Rasoli, V. (2022). Evaluation of some physiological and biochemical characteristics of several promising grapevine cultivars under low irrigation conditions. *Research in Pomology*, *6*(2).
27. Siosemardeh, A., Ahmadi, A., Poustini, K., & Ebrahimzadeh, H. (2003). Stomatal and nonstomatal limitations to photosynthesis and their relationship with drought resistance in wheat cultivars. *Iranian Journal of Agricultural Science*, *34*(4), 93-106. (In Persian)
28. Siosemardeh, A., Gholami, S., Bahramnejad, B., Kanouni, H., & Sadeghi, F. (2014). Effect of drought stress on compatible osmolytes content, enzyme activity and grain yield in chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes. *Iranian*

Journal of Crop Sciences, *16*(2), 109-124. (In Persian)

29. Sorori, S., Asgharzade, A., Marjani, A., & Samadi, M. (2022). Evaluation of drought stress tolerance among some of grape cultivars using physiological and biochemical studies. *Journal of Horticultural Science*, *36*(2), 373-388. (In Persian with English abstract)
30. Sparks, D.L., Page, A.L., Helmke, P.A., & Loeppert, R.H. (2020). *Methods of soil analysis, part 3: Chemical methods*, John Wiley & Sons.
31. Talaei, A., Ghaderi, N., Ebadi, A., & Lesani, H. (2011). Biochemical responses of grape cvs Sahani and Bidane-Sefid, subjected to progressive drought. *Iranian Journal of Horticultural Science*, *42*(3), 301-308. (In Persian)
32. Usmani, M.M., Nawaz, F., Majeed, S., Shehzad, M.A., Ahmad, K.S., Akhtar, G., Aqib, M., & Shabbir, R.N. (2020). Sulfate-mediated drought tolerance in maize involves regulation at physiological and biochemical levels. *Scientific Reports*, *10*(1), 1-13. http://dx.doi.org/10.1038/s41598-41020-58169-41592
33. Van den Berg, L. & Zeng, Y. (2006). Response of South African indigenous grass species to drought stress induced by polyethylene glycol (PEG) 6000. *South African Journal of Botany*, *72*(2), 284-286. http://dx.doi.org/210.1016/j.sajb.2005.1007.1006
34. Xin, X., Zhang, J., Zhu, A., & Zhang, C. (2016). Effects of long-term (23 years) mineral fertilizer and compost application on physical properties of fluvo-aquic soil in the North China Plain. *Soil and Tillage Research*, *156*, 166-172. http://dx.doi.org/110.1016/j.still.2015.1010.1012

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

CC BY

Research Article
Vol. 37, No. 2, Summer 2023, p. 337-350

Effectiveness of Acid Gibberellic and Magnetic Field on Shelf Life and Post-Harvest Life of Strawberry cv. Selva under Temperature Stress Conditions

M.R. Zandi[1], A.H. Aboutalebi Jahromi[2*], B. Behroznam[3], A.R. Zakerin[4]

Received: 28-12-2021
Revised: 02-10-2022
Accepted: 03-10-2022
Available Online: 03-10-2022

How to cite this article:
Zandi, M.R., Aboutalebi Jahromi, A.H., Behroznam, B., & Zakerin, A.R. (2023). Effectiveness of acid gibberellic and magnetic field on shelf life and post-harvest life of strawberry cv. Selva under temperature stress conditions. *Journal of Horticultural Science*, *37*(2), 337-350. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jhs.2022.74406.1121

Introduction

Strawberry is one of the most important small fruits in the world, which is cultivated as a perennial plant in temperate regions of the world. Ripe strawberry fruit contains compounds such as protein, fiber, sugars such as fructose, glucose, sucrose, organic acids, vitamins, minerals, as well as phenolic compounds and anthocyanins. The aim of this study was to investigate some hormonal treatments and magnetic field on some physiological and biochemical characteristics, shelf life and postharvest life of strawberry cv. Selva under temperature stress.

Materials and Methods

This experiment was performed as a split plot based on a completely randomized design with 3 replications. Physiological and biochemical characteristics were studied on several tissues of Selva strawberry cultivar under several different temperature treatments. The treatments were gibberellic acid at three levels of control, 50 and 100mg/l in the main plots, magnetic field at 3 levels of control, 10 and 20ms, in the subplots and temperature stress in three levels including 2, 8 and 20°C. It was done on strawberries in subplots. Healthy prepared strawberry fruits were subjected to magnetic treatments and then immersed in hormonal solutions for 2min and after drying, stored for 8 days in different refrigerators at temperatures according to research treatments. The samples were then removed from the refrigerator and transferred to a laboratory to measure various characteristics. The studied traits included: fruit weight, fruit diameter, fruit length, fruit moisture content, titratable acidity, fruit juice pH and vitamin C.

Results and Discussion

Results of analysis of variance showed that the simple and triple interactions of treatments on all studied traits were significant. Comparison of the mean triple interaction of gibberellic acid treatment × magnetic field × temperature showed that the highest amount of fruit weight (19.49g), the highest amount of fruit diameter (33.7mm), the highest fruit length (48.62mm), the highest fruit moisture (34.65%) was obtained in the treatment of 50mg/l gibberellic acid, ten Tesla magnetic field and a temperature of eight degrees Celsius. The lowest fruit weight of 10.65 g was obtained in the treatment of non-use of gibberellic acid, non-use of magnetic field and temperature of 20°C. The lowest fruit weight loss of 3.74% was obtained in the treatment of 50 mg/l gibberellic acid, 20 Tesla magnetic field and 2°C. The lowest fruit diameter of 21.52mm was obtained in the treatment of non-consumption of gibberellic acid, absence of magnetic field and temperature of 20°C. The lowest fruit length of 25.63 mm was obtained in the treatment of no gibberellic acid, no magnetic field and a temperature of 20°C. The lowest amount of titratable acidity (0.31%), the lowest pH of fruit juice (4.68) and the highest amount of vitamin C (34.92mg/100 ml) in the treatment of non-use of gibberellic acid, no use of field Magnetic and a

1, 2, 3 and 4- Ph.D. Student, Associate Professor and Assistant Professors of Horticultural Science, Jahrom Branch, Islamic Azad University, Jahrom, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: aboutalebi@jia.ac.ir)
DOI: 10.22067/jhs.2022.74406.1121

temperature of 20°C were obtained. The lowest amount of vitamin C was equal to 20.5mg/100ml in the treatment of no use of gibberellic acid, no use of magnetic field and a temperature of 20°C.High concentrations of gibberellic acid have a beneficial effect on increasing cell division and fruit size. Gibberellic acid increases fruit size and weight due to its effect on increasing cell division in the early stages of fruit development and increasing cell size at late fruit ripening. Magnetic field also affects plant metabolic activity. Fruit volume includes fruit length. It decreases due to the magnetic field. Fruit weight showed a significant positive correlation with fruit diameter, fruit length, fruit moisture and vitamin C. In terms of the triple interaction of the research treatments, the best effective treatment for increasing the storage time of strawberries was the combined treatment of 50 mg/l gibberellic acid and ten Tesla magnetic field and a temperature of 8°C.

Conclusion

Fruit weight showed a significant positive correlation with fruit diameter, fruit height, fruit moisture and vitamin C. In terms of the triple interaction of the research treatments, the best effective treatment for increasing the storage time of strawberries was the combined treatment of 50 mg/l gibberellic acid and ten Tesla magnetic field at a temperature of 8°C.

Keywords: Fruit length, Fruit diameter, Shelf life, Titratable acidity, Vitamin C

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

مقاله پژوهشی
جلد ۳۷، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۲، ص. ۳۵۰-۳۳۷

اثر جیبرلیک‌اسید و میدان مغناطیسی بر ماندگاری توت‌فرنگی رقم 'سلوا' در شرایط تنش دمایی

محمدرضا زندی[۱]- عبدالحسین ابوطالبی جهرمی[۲]*- بهنام بهروزنام[۳]- عبدالرسول ذاکرین[۴]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۰/۰۷
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۷/۱۰
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۷/۱۱

چکیده

این پژوهش به منظور بررسی تیمار هورمونی جیبرلیک اسید و میدان مغناطیسی بر صفات مرتبط با ماندگاری توت فرنگی رقم'سلوا'، در شرایط تنش دمایی، به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. تیمارهای تحقیق شامل جیبرلیک اسید در سه سطح شاهد (صفر)، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر، میدان مغناطیسی در ۳ سطح شاهد،۱۰ و ۲۰ میلی‌تسلا و تنش دمایی در سه سطح ۲، ۸ و ۲۰ درجه سانتی‌گراد بودند. میوه‌های توت فرنگی رقم 'سلوا' تحت تأثیر تیمارهای مغناطیسی قرار داده شد و سپس به مدت ۲ دقیقه در محلول هورمونی جیبرلیک اسید غوطه‌ور و پس از خشک کردن، به مدت ۸ روز در یخچال‌های مختلف با دماهای مطابق با تیمارهای پژوهش نگهداری شدند. صفات مورد بررسی شامل وزن میوه، قطر میوه، طول میوه، درصد رطوبت میوه، اسیدیته قابل تیتراسیون، pH آب‌میوه و ویتامین C بود. نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات ساده و متقابل سه‌گانه تیمارها بر تمام صفات مورد مطالعه معنی‌دار بود. مقایسه میانگین اثر متقابل سه‌گانه تیمار جیبرلیک اسید × میدان مغناطیسی × دما نشان داد که بیشترین مقدار وزن میوه (۱۹/۴۹ گرم)، بیشترین مقدار قطر میوه (۳۳/۷ میلی‌متر)، بیشترین طول میوه (۴۸/۶۲ میلی‌متر)، بیشترین مقدار رطوبت میوه (۳۴/۶۵ درصد)، در تیمار ۵۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلیک اسید، میدان مغناطیسی ۱۰ میلی‌تسلا و دمای ۸ درجه سانتی‌گراد حاصل گردید. کمترین مقدار وزن میوه (۱۰/۶۵ گرم) در تیمار بدون جیبرلیک اسید، عدم استفاده از میدان مغناطیسی و دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد بدست آمد. کمترین مقدار کاهش وزن میوه (۳/۷۴ درصد) در تیمار ۵۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلیک اسید، میدان مغناطیسی ۲۰ میلی‌تسلا و دمای ۲ درجه سانتی‌گراد بدست آمد. کمترین مقدار قطر میوه (۲۱/۵۲ میلی‌متر)، کمترین مقدار طول میوه (۲۵/۶۳ میلی‌متر) در تیمار عدم مصرف جیبرلیک اسید، عدم وجود میدان مغناطیسی و دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد بدست آمد. کمترین مقدار اسیدیته قابل تیتراسیون (۰/۳۱ درصد)، کمترین مقدار pH آب میوه (۴/۶۸) و بیشترین مقدار ویتامین C (۳۴/۹۲ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر) در تیمار عدم مصرف جیبرلیک اسید، عدم استفاده از میدان مغناطیسی و دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد و کمترین مقدار ویتامین C نیز معادل ۵/۲۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر در تیمار عدم مصرف جیبرلیک اسید، عدم استفاده از میدان مغناطیسی و دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد بدست آمد. از لحاظ اثر متقابل سه‌گانه تیمارهای پژوهش، بهترین تیمار مؤثر بر افزایش مدت زمان نگهداری توت فرنگی، تیمار ترکیبی مصرف ۵۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلیک اسید و میدان مغناطیسی ۱۰ میلی‌تسلا و دمای ۸ درجه سانتی‌گراد بود.

واژه‌های کلیدی: اسیدیته قابل تیتراسیون، قطر میوه، ماندگاری، ویتامین C

۱، ۲، ۳ و ۴- به‌ترتیب دانشجوی دکتری، دانشیار و استادیاران گروه علوم باغبانی، واحد جهرم، دانشگاه آزاد اسلامی، جهرم، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: aboutalebi@jia.ac.ir)

DOI: 10.22067/jhs.2022.74406.1121

مقدمه

توت فرنگی بـا نـام علمـی *Fragaria × ananassa* یکـی از اعضـای تیـره Rosacea و میـوه‌ای نـافرازگرا اسـت (Phalsaphy, 2012). ایران رتبه هجدهم را در تولید تـوت فرنگـی جهـان دارد، بـه طوری‌که در سال ۱۳۹۰ از ۴۰۸۰۰۰۰ تن تولید جهانی، حدود ۴۲۰۰۰ تن توت فرنگی در ایران تولید شد (Pietruszewski, 1996). قنـدها، اسیدهای آلی و ترکیبات معطر در طعم توت فرنگی نقش مهمی دارند و کیفیت این میوه به وضـعیت ظـاهری، بافـت، عطـر، طعـم و ارزش تغذیه‌ای آن بستگی دارد (Phalsaphy, 2012). توت فرنگی به دلیل داشتن بافت نرم و میزان تنفس بالا، مقدارآب فـراوان (حـدود ۹۱٪)، فعالیت متابولیکی بالا و حساسیت بـه فسـاد قـارچی زمـان نگهـداری کوتاهی دارد (Watanabe *et al*., 2008).

در سال‌های اخیر تلاش‌های فراوانی در راستای افزایش ماندگاری میوه توت فرنگی و حفـظ ارزش تغذیـه‌ای آن در زمـان انبارمـانی بـا روش‌هایی غیر از استفاده از قارچ‌کش‌ها صورت گرفته است (Çetin, 2002). محققان افزایش زمان نگهداری این میوه را بـا بـه کـارگیری روش‌هایی مانند اتمسفر کنترل شده (Wszelaki, 2003)، اسـتفاده از ترکیبات حـاوی کلسـیم (Marinkovic *et al*., 2014) و اسـتفاده از امواج فراصوت (Khoshkhoi *et al*., 2007) گزارش نموده‌اند. یکـی از روش‌های مناسب و عملیاتی برای افزایش مانـدگاری ایـن میـوه و جلوگیری از گسترش آسیب بافت آن، کاربرد پوشش‌های تهیه شده بر پایه پلیمرهای طبیعی است به‌طوری که امروزه، در بسته‌بنـدی برخـی مواد غذایی، پوشش‌های خوراکی جایگزین پوشش‌های سنتزی شده و انواع مختلفی از پلی‌ساکاریدها در ساخت پوشش‌های خوراکی نیـز بـه کار رفته‌اند (Wszelaki, 2003). با توجه به ایمن نبـودن روش‌هـای شیمیایی نگهداری توت فرنگی، محققین به دنبـال روش‌هـای ایمـن نگهداری و افزایش عمر پس از برداشت این میوه می‌باشند. ترکیبـاتی مانند جیبرلیک اسید و میدان مغناطیسی مـی‌تواننـد محققـین را در راه رسیدن به این هدف یاری نماید (Wszelaki, 2003). تـوت فرنگـی برای گلدهی، نیاز به روز کوتاه و دمای پایین دارد که تیمار جیبرلیـک اسید می‌تواند جایگزین هر دوی اینها شود و همچنـین رشـد میـوه را افزایش دهد (Khan Kashi *et al*., 2019). تیمار پـاکلوبوترازول در زمان مناسب، رشد رویشی طبیعی گیاه را کاهش داده و رشد زایشی را افزایش می‌دهد. ضمناً هر کـدام از ارقـام تـوت فرنگـی بـا توجـه بـه وضـعیت هورمـونی خـود، واکـنش متفـاوتی دارنـد (Sindhus and Singhrot, 1993). جیبرلیک‌اسید نقش‌های گوناگونی را در گیاهـان بر عهـده دارد (Khabazipour *et al*., 2014). طبـق گـزارش‌هـای موجود (Andrews and Li, 1995)، جیبرلیک اسید با کاهش فعالیت آنزیم‌های پلیگالاکتروناز و پکتـین متیـل اسـتراز و همچنـین تنظـیم فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک دیواره سلولی که بر نرم شـدگی میـوه مؤثر می‌باشد، باعث حفـظ سـفتی بافـت میـوه در گـیلاس مـی‌شـود (Riberio *et al*., 2007). فـاکتیو و همکـاران (Facteau *et al*., 2007) اعلام کردند، افزایش سفتی در گیلاس تیمار شده با جیبرلیک اسید مربوط به افزایش مواد جامد نامحلول در الکلیا به علت بالا بودن پکتین‌های محلول در پکتیناز و کمبود پکتین‌های محلول در آب است (Florez *et al*., 2007). تیمار با جیبرلیک اسید در میوه‌هـای گوجـه فرنگی (Perez and Gomez, 2000) و تـوت فرنگـی (Raso and Heinz, 2007) تحریک تولید اتیلن و توسعه رنگ را به تأخیر انداخته و می‌تواند به طور مستقیم بر رسیدگی میوه تأثیرگذار باشد که می‌تواند به علت مقاومت نفوذی کم پوست و میزان تنفس بالا باشد (Dhawi *et al*., 2009). به نظر می‌رسد که جیبرلیک اسید از طریـق افـزایش سفتی، کاهش سرعت تنفس و کـاهش تولیـد اتـیلن و فعالیـت‌هـای متابولیکی، از کـاهش وزن میـوه جلـوگیری مـی‌کنـد (Mohamed, 2004). تحریک گیاهان با استفاده از میدان‌های مغناطیسی، به عنوان راهی جهت افزایش کمیت و کیفیت عملکرد مورد توجه قـرار گرفتـه است. بنابراین جایگزینی کودها و مکمل‌های شـیمیایی بـا تیمارهـای فیزیکی، میزان سموم را در مـواد خـام گیـاهی کـاهش داده و باعـث افزایش سلامت غذا و محـیط مـی‌گـردد (Aladjadjiyan, 2007 و Wszelaki, 200). میـدان‌هـای الکترومغناطیسـی مجموعـه‌ای از میدان‌های الکتریکی و میدان‌های مغناطیسی هستند که سبب القـای میدان الکتریکی در بافت می‌شود و اثرات زیستی منتسـب بـه میـدان الکتریکی به میدان مغناطیسی نیز قابل تعمیم است (Saberi *et al*., 2014). به نظر می‌رسد که میدان‌های مغناطیسی اثرگـذاری بیشـتری نسبت به میدان‌های الکتریکی روی بافت زنده دارند. بدین مفهوم کـه میدان‌های الکتریکی از درون سلول گذر نموده و سـلول در مقابـل آن مانند یک خازن عمل می‌نماید. اما میـدان‌هـای مغناطیسـی بـه درون سلول نفوذ کرده و زمـان اثرگـذاری آنهـا طـولانی‌تـر اسـت. میـدان مغناطیسی متغیر طبق قـانون القـای فـارادی در بافـت تولیـد میـدان الکتریکی می‌نماید و در نتیجه جریان گردابی در مسیر حلقـوی عمـود بر جهت میدان مغناطیسی تولید خواهـد نمـود (El-Kosavi, 2009). گزارش شده است که میدان مغناطیسی هـم فعالیـت یـون‌هـا و هـم قطبیت ملکول‌های دو قطبی را در سلول‌های زنده تحـت تـأثیر قـرار می‌دهد (Efe *et al*., 2004). خانکشی و همکاران (Khan Kashi *et al*., 2019) در مقایسه اثر ضخامت پلی‌اتیلن، ترکیب گازی و دمـا بـر زمان ماندگاری و کیفیت توت فرنگی،گزارش کردند که دمای ۴ درجۀ سانتی‌گراد به‌دلیل کاهش تنفس، تبخیر و تعرق در حفـظ خصوصـیات کمی و کیفی توت فرنگی بهتر از دمای ۸ درجۀ سانتی‌گراد عمل کرد، در نتیجه توت فرنگی‌هایی که در پوشش پلـی‌اتـیلن بـا ضـخامت ۹۰ میکرون و ترکیب گازی اول در دمای ۴ درجۀ سانتی‌گراد بسـته‌بنـدی

شدند بهترین کیفیت و بالاترین ماندگاری را داشتند (Khoshkhoi *et al.*, 2007). با عنایت به مصرف بالای توت فرنگی در کشور و شرایط بهینه پرورش و تولید این محصول، لازم است تحقیقات علمی در راستای روش‌های نگهداری و افزایش عمر ماندگاری این محصول انجام گردد که هدف این تحقیق می‌باشد.

مواد و روش‌ها

ماده گیاهی و محل پژوهش

این آزمایش در سال ۱۳۹۹ در شهر شیراز با مختصات جغرافیائی ۳۲ درجه و ۴۹ دقیقه طول شرقی و ۳۸ درجه و ۲۷ دقیقه عرض شمالی انجام شد. توت فرنگی رقم ’سلوا‘ از گلخانه‌ای در منطقه ظفرآباد شیراز تهیه گردید. برای بررسی صفات مرتبط با ماندگاری توت فرنگی، آزمایشی به شرح زیر انجام شد. تیمارهای تحقیق شامل جیبرلیک اسید در سه سطح G_1 (شاهد)، G_2 (۵۰ میلی‌گرم در لیتر) و G_3(۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر)، میدان مغناطیسی در سه سطح S_1 (شاهد)، S_2 (۱۰ میلی‌تسلا) و S_3 (۲۰ میلی‌تسلا)، و تنش دمایی در سه سطح H_1، H_2 و H_3 شامل ۲، ۸ و ۲۰ درجه سانتی‌گراد بر روی میوه توت فرنگی انجام شد. میوه‌های سالم توت فرنگی از گلخانه برداشت شد و در آزمایشگاه، میوه‌ها درون دو استوانه از جنس پلی‌وینیل کلراید به قطر ۲۰ و ارتفاع ۴۰ سانتی‌متری که در استوانه شماره یک، ۳۰۰ دور و بر روی استوانه شماره دو، ۴۴۵ دور سیم مسی به ضخامت یک میلی‌متر پیچیده شد. استوانه‌ها به مداری با جریان الکتریکی ۰/۱ آمپر متصل شدند. سپس میوه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه تحت تأثیر تیمارهای میدان مغناطیسی سطح S_1 (شاهد)، S_2 (۱۰ میلی‌تسلا) و S_3 (۲۰ میلی‌تسلا)، قرار گرفتند و ۲ دقیقه به صورت غوطه‌وری در محلول هورمونی جیبرلیک اسید قرار داده شدند. پس از انجام پیش تیمار هورمونی، میوه‌ها از محلول خارج شده و در هوای آزمایشگاه، خشک شدند و به مدت ۸ روز در انبارهای ۲، ۸ و ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. پس از آن، نمونه‌ها از انبار خارج شده و صفات زیر اندازه‌گیری شدند.

درصد کاهش وزن میوه

درصد کاهش وزن میوه بر اساس اختلاف وزن اولیه و وزن ثانویه (پس از خارج شدن از آون) و با استفاده از ترازوی دیجیتالی مدل ۳۰۳۱ اس‌آی‌اس ساخت کشور ایران اندازه‌گیری شد. بدین منظور ۱۰۰ گرم نمونه از میوه توت فرنگی را وزن کرده و در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد در آون به مدت ۷۲ ساعت قرار داده تا خشک شد. درصد کاهش وزن بر اساس رابطه زیر محاسبه شد.

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

قطر، طول و درصد رطوبت میوه

قطر و طول میوه‌ها با استفاده از کولیس مدرج با دقت ۰/۰۲ میلی‌متر قرائت و در جدول داده‌ها ثبت گردید. برای اندازه‌گیری درصد رطوبت، میزان ۱۰۰ گرم از میوه توت فرنگی را وزن کرده و در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد در آون به مدت ۷۲ ساعت قرار داده تا خشک شود و سپس با استفاده از فرمول زیر، درصد رطوبت محاسبه شد.

۱۰۰×(وزن خشک نمونه – وزن اولیه نمونه) = درصد رطوبت میوه

اسیدیته قابل تیتراسیون (TA)

ابتدا ۱۰ میلی‌لیتر از عصاره میوه را توسط پیپ داخل ظرف شیشه ای ریخته و به آن ۲۰ تا ۴۰ میلی‌لیترآب مقطر اضافه شد. داخل محلول ۲ قطره معرف فنول فتالئین ۰/۱ درصد اضافه و سپس عمل سنجش حجمی (تیتراسیون) توسط هیدروکسیدسدیم ۰/۱ نرمال انجام شد. هنگامی که رنگ محلول حاوی عصاره میوه به قرمز روشن تبدیل شد، عمل تیتراسیون خاتمه یافت. برای تهیه محلول فنول فتالئین ۰/۱ درصد مقدار یک گرم از پودر آن را در اتانول ۹۰ درصد حل کرده و حجم محلول به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. بر اساس مقدار هیدرکسیدسدیم مصرف شده در عمل تیتراسیون، مقدار اسید در عصاره میوه به صورت گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر در عصاره میوه محاسبه گردید (Bakhshabadi *et al.*, 2017).

ویتامین C

اندازه‌گیری ویتامین C به روش تیتراسیون انجام شد. بدین منظور، ۲۵ گرم میوه را آب‌گیری کرده و پس از صاف کردن آن، ۲ میلی‌لیتر از آن را با ۲ میلی‌لیتر کلرو استیک اسید ۵ درصد مخلوط کرده و سپس تیتراسیون با معرف ۲ و ۶ کلرو ایندو فنول تا زمان تغییر رنگ محلول از آبی به صورتی انجام گرفت. میزان ویتامین C برحسب میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن تازه میوه بیان شد (Cao *et al.*, 2010).

pH آب میوه

pH عصاره میوه پس از عصاره‌گیری با استفاده از دستگاه pH سنج اندازه‌گیری شد.

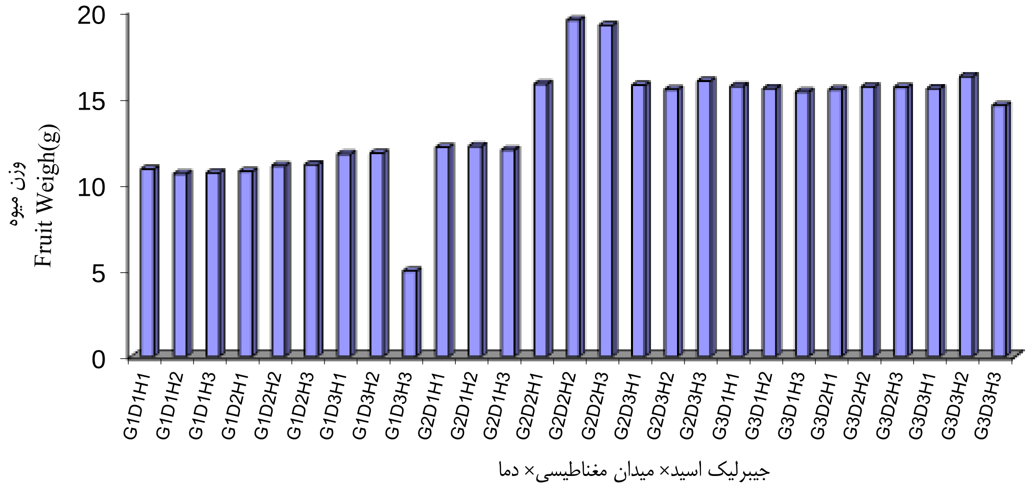
آنالیز داده‌ها

آزمایش به صورت اسپلیت اسپلیت پلات بر پایه طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون کمترین اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتیجه و بحث

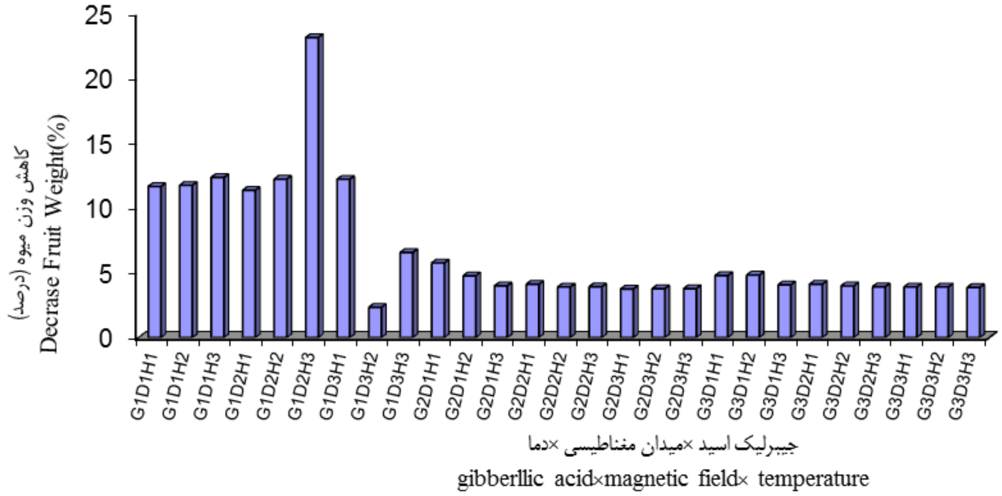
وزن میوه

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که اثرات ساده و متقابل دوگانه و سه‌گانه جیبرلیک اسید، میدان مغناطیسی و تنش دمایی بر وزن میوه در سطح آماری ۱ درصد معنی‌دار شد. نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین مقدار وزن میوه در تیمار ۵۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلیک اسید، میدان مغناطیسی ۱۰ میلی‌تسلا و دمای ۸ درجه سانتی‌گراد، معادل ۱۹/۴۹ گرم حاصل شد که با تیمار مصرف ۵۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلیک اسید، میدان مغناطیسی ۱۰ میلی‌تسلا و دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد در یک کلاس آماری (کلاس a) قرار داشت و اختلاف معنی‌دار نداشتند. کمترین مقدار وزن میوه نیز معادل ۱۰/۶۵ گرم در تیمار عدم مصرف جیبرلیک اسید، عدم استفاده از میدان مغناطیسی و دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد بدست آمد (شکل ۱). جیبرلین‌ها نقش فعالی در تقسیم و افزایش سلولی دارند. علاوه بر این، استفاده از تنظیم کننده‌های رشد پس از گلدهی، باعث افزایش وزن میوه می‌شود (Watanabe *et al.*, 2008). در پژوهشی روی میوه گواوا جیبرلیک اسید، سبب افزایش وزن میوه و وزن مخصوص شد (Çetin, 2002). برهماچاری ورانی (Brahmachari and Rani, 2005) پیشنهاد کردند که جیبرلیک اسید و کینتین در افزایش حفظ کیفیت میوه‌های گواوا مفید هستند، همچنین استفاده برونزا از تنظیم کننده‌های رشد، افت وزن میوه را به میزان قابل توجهی کاهش میدهد و منجر به افزایش تعداد کل میوه‌ها و وزن میوه در گیاهان می‌شود (Brahmachari and Rani, 2005). افزایش وزن میوه ممکن است به دلیل هورمون جهت انتقال و تجمع کربوهیدرات باشد که منجر به رشد بهتر میوه و همچنین تسریع تقسیم سلولی و بزرگ شدن می‌شود (Majd and Shabrangi, 2009). مشاهدات مشابهی توسط دائولتا وبنیوال (Daulta and Beniwal, 1983) گزارش شد که حداکثر وزن میوه نارنگی را با تیمار شده جیبرلیک اسید مشاهده شد (Daulta and Beniwal, 1983). همچنین جیبرلیک اسید نیز با اثر بر فعالیت آنزیم‌ها در حفظ شادابی و افزایش مدت زمان نگهداری میوه بر اساس صفات مورد مطالعه در این تحقیق، اثر معنی‌دار نشان داد. به نظر می‌رسد بر اساس یک پژوهش (Bakhshabadi *et al.*, 2017)، عملیات مغناطیسی با تحت‌تأثیر قرار دادن فرایندهای بیوشیمیایی که رادیکال‌های آزاد را در برمی‌گیرند و همچنین با تحریک فعالیت پروتئین‌ها و آنزیم‌ها، انرژی یا توان گیاهان را افزایش می‌دهند. استیتکن و توران (Esitken and Turan, 2004) سازوکار میدان مغناطیسی را به فعال کردن هورمون‌های گیاهی ربط داده‌اند (Esna-Ashari and Zokaee Khosroshahi, 2009). آنها همچنین معتقدند میدان مغناطیسی، ساختار غشای سلول‌های گیاهی را به منظور جذب آب و مواد مغذی بیشتر تغییر می‌دهد، لذا در این تحقیق مشاهده شد که میدان مغناطیسی بر وزن میوه اثر معنی‌دار نشان داد.



شکل ۱- اثر متقابل کاربرد جیبرلیک اسید× میدان مغناطیسی × دما بر وزن میوه توت فرنگی رقم 'سلوا'

Figure 1- The interaction effect of gibberellic acid× magnetic field ×temperature application on the fruit weight of strawberry cv. Selva (LSD, *p≤0.05*)



شکل ۲- اثر متقابل کاربرد جیبرلیک اسید× میدان مغناطیسی × دما بر کاهش وزن میوه توت فرنگی رقم 'سلوا'

Figure 2- The interaction effect of gibberellic acid× magnetic field ×temperature application on the decrease fruit weight of strawberry cv. Selva (LSD, *p≤0.05*)

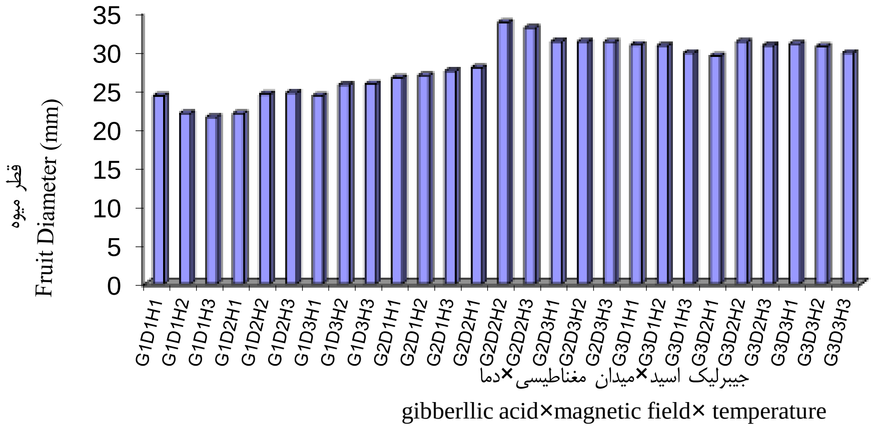
کاهش وزن میوه

مقایسه میانگین اثر متقابل سه‌گانه تیمار جیبرلیک اسید × میدان مغناطیسی × دما برای میانگین کاهش وزن میوه نشان داد که بیشترین مقدار درصد کاهش وزن میوه، در تیمار عدم مصرف جیبرلیک اسید و میدان مغناطیسی و دمای بیست درجه سانتی‌گراد معادل ۱۲/۳۴ درصد حاصل شد که با تیمارهای عدم مصرف جیبرلیک اسید، میدان مغناطیسی ۱۰ میلی‌تسلا و دمای ۸ درجه سانتی‌گراد، عدم مصرف جیبرلیک اسید، میدان مغناطیسی ۱۰ میلی‌تسلا و دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد، عدم مصرف جیبرلیک اسید، میدان مغناطیسی ۲۰ میلی‌تسلا و دمای ۲ درجه سانتی‌گراد، عدم مصرف جیبرلیک اسید، میدان مغناطیسی ۲۰ میلی‌تسلا و دمای ۸ درجه سانتی‌گراد در یک کلاس آماری (کلاس a) قرار داشتند و با هم اختلاف معنی‌دار نداشتند. کمترین مقدار کاهش وزن میوه نیز معادل ۳/۷۴ درصد در تیمار مصرف ۵۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلیک اسید، میدان مغناطیسی ۲۰ میلی‌تسلا و دمای ۲ درجه سانتی‌گراد بدست آمد (شکل ۲). جیبرلیک اسید به صورت یک ضد حساسیت و ضد عرق عمل می کند که فعالیت کاتابولیک را مهار کرده و در نتیجه، کاهش وزن را در حین نگهداری کاهش می‌دهد (Zomo *et al*., 2014). این یافته‌ها مطابق با گزارش‌هایی در لیمو (Dhawi *et al*., 2009)، گواوا (Zomo *et al*., 2014) و نارنگی (Khabazipour *et al*., 2014) است که کاهش در کاهش وزن میوه‌ها در طول ذخیره‌سازی مطابقت دارد. ذرات مواد آلی و معدنی در اغلب قسمت‌های بافت، قطبی هستند. بنظر می‌رسد یک میدان مغناطیسی خارجی روی سرعت و جهت جایگزینی ذرات قطبی شده تاثیر گذارد. در نتیجه ممکن است اثر زیادی در سرعت و جهت بعضی فرایندهای زنده در گیاه داشته باشد. صعود کاپیلاری در مکانیسم انتقال مواد در بافت‌های زنده نیز ممکن است توسط میدان مغناطیسی تغییر یابد (Facteau *et al*., 2003).

قطر میوه

نتایج نشان داد که اثرات ساده جیبرلیک اسید و دما در سطح آماری ۱ درصد و اثر ساده میدان مغناطیسی در سطح ۵ درصد بر قطر میوه اثر معنی‌دار داشت. اثرات متقابل دوگانه جیبرلیک اسید × میدان مغناطیسی و همچنین جیبرلیک اسید × دما در سطح آماری ۱ درصد ولی اثر متقابل دوگانه میدان مغناطیسی × دما در سطح آماری ۵ درصد بر وزن میوه معنی‌دار بود. اثر متقابل سه‌گانه جیبرلیک اسید × میدان مغناطیسی × دما نیز بر وزن میوه در سطح آماری ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). در مقایسه میانگین اثر متقابل سه‌گانه تیمار جیبرلیک اسید × میدان مغناطیسی × دما برای میانگین قطر میوه نشان داد که بیشترین مقدار درصد قطر میوه، در تیمار مصرف ۵۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلیک اسید و میدان مغناطیسی ۱۰ میلی‌تسلا و دمای ۸ درجه سانتی‌گراد معادل ۳۳/۷ میلی‌متر حاصل شد که با تیمار مصرف ۵۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلیک اسید و میدان مغناطیسی ۱۰ میلی‌تسلا و دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد در یک کلاس آماری (کلاس a) قرار داشتند و با هم اختلاف معنی‌دار نداشتند. کمترین مقدار قطر میوه نیز معادل ۲۱/۵۲ میلی‌متر در تیمار عدم مصرف جیبرلیک اسید، عدم وجود میدان مغناطیسی و دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد بدست آمد (شکل ۳). گزارش شده است جیبرلیک اسید از طریق تشدید جریان مواد قندی به درون میوه و یا ممانعت از خروج این مواد از درون سلول می‌گردد (Majd and Shabrangi, 2009). جیبرلیک اسید

آنزیم‌های اینورتاز و ان‌آد دیپنـــدنت سـوربیتول دهیـدروژناز را فعـال نموده و سبب تجزیه قند در سلول‌های میوه می‌شود. تجمـع قنـدهای احیا کننده پتانسیل آب شـیره سلولی را منفی‌تر نموده و باعث جریـان بیشتر آب به درون سلول‌ها میگردد و از این طریق اندازه نهایی میـوه افزایش می‌یابد (Zomo *et al.*, 2014). محمد (Mohamed, 2004) گزارش داد محلول‌پاشی درختان انار با اسید جیبرلیک در غلظت‌هـای ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر، موجب افزایش وزن میوه‌های انـار گردید (Ozkan *et el.*, 2016). به نظر می‌رسد غلظـت‌هـای بـالای جیبرلیک اسید تاثیر بسزایی بر افزایش تقسـیم سـلولی و قطـر میـوه داشته است (Esna-Ashari and Zokaee Khosroshahi, 2009).

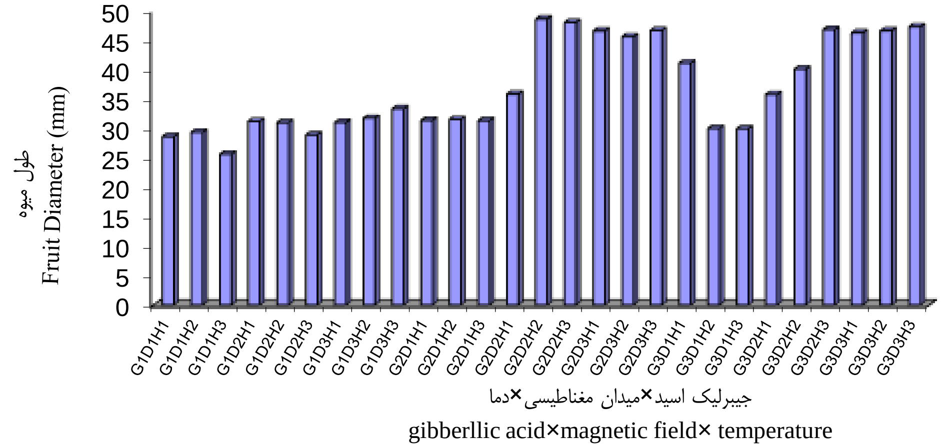


شکل ۳- اثر متقابل کاربرد جیبرلیک اسید× میدان مغناطیسی × دما بر قطر میوه توت فرنگی رقم 'سلوا'

Figure 3- The interaction effect of gibberellic acid× magnetic field ×temperature on the fruit diameter of strawberry cv. Selva (LSD, *p≤0.05*)

قطر میوه

نتایج نشان داد که اثرات ساده جیبرلیـک اسـید و دمـا در سـطح آماری ۱ درصد و اثر ساده میدان مغناطیسی در سطح ۵ درصد بر قطر میوه اثر معنی‌دار داشت. اثرات متقابل دوگانه جیبرلیک اسید × میـدان مغناطیسی و همچنین جیبرلیک اسید × دما در سطح آماری ۱ درصـد ولی اثر متقابل دوگانه میـدان مغناطیسـی × دمـا در سـطح آمـاری ۵ درصد بر وزن میوه معنی‌دار بود. اثر متقابل سه‌گانه جیبرلیـک اسـید × میدان مغناطیسی × دما نیز بـر وزن میـوه در سـطح آمـاری ۱ درصـد معنی‌دار شد (جدول ۱). در مقایسه میانگین اثر متقابل سه‌گانـه تیمـار جیبرلیک اسید × میدان مغناطیسی × دما بـرای میـانگین قطـر میـوه نشان داد که بیشترین مقدار درصد قطـر میـوه، در تیمـار مصـرف ۵۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلیک اسید و میدان مغناطیسی ۱۰ میلـی‌تسـلا و دمای ۸ درجه سانتی‌گراد معادل ۳۳/۷ میلی‌متر حاصل شد که با تیمار مصرف ۵۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلیک اسـید و میـدان مغناطیسـی ۱۰ میلی‌تسلا و دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد در یک کلاس آماری (کلاس a) قرار داشتند و با هم اختلاف معنی‌دار نداشتند. کمترین مقـدار قطـر میوه نیز معادل ۲۱/۵۲ میلی‌متر در تیمار عدم مصرف جیبرلیک اسید، عدم وجود میدان مغناطیسی و دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد بدست آمـد (شکل ۳). گزارش شده است جیبرلیک اسید از طریق تشـدید جریـان مواد قندی به درون میوه و یـا ممانعـت از خـروج ایـن مـواد از درون سلول می‌گـردد (Majd and Shabrangi, 2009). جیبرلیـک اسـید آنزیم‌های اینورتاز و ان‌آد دیپنـــدنت سـوربیتول دهیـدروژناز را فعـال نموده و سبب تجزیه قند در سلول‌های میوه می‌شود. تجمـع قنـدهای احیا کننده پتانسیل آب شـیره سلولی را منفی‌تر نموده و باعث جریـان بیشتر آب به درون سلول‌ها میگردد و از این طریق اندازه نهایی میـوه افزایش می‌یابد (Zomo *et al.*, 2014). محمد (Mohamed, 2004) گزارش داد محلولپاشی درختان انار با اسید جیبرلیک در غلظـت‌هـای ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر، موجب افزایش وزن میوه‌های انـار گردید (Ozkan *et el.*, 2016). به نظر می‌رسد غلظـت‌هـای بـالای جیبرلیک اسید تاثیر بسزایی بر افزایش تقسـیم سـلولی و قطـر میـوه داشته است (Esna-Ashari and Zokaee Khosroshahi, 2009).



شکل ٤- اثر متقابل کاربرد جیبرلیک اسید× میدان مغناطیسی × دما بر طول میوه توت فرنگی رقم 'سلوا'

Figure 4- The interaction effect of gibberellic acid× magnetic field ×temperature application on the fruit length of strawberry cv. Selva (LSD, *p≤0.05*)

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس اثر کاربرد جیبرلیک اسید، میدان مغناطیسی و دما بر برخی صفات مورفولوژیکی میوه توت فرنگی رقم 'سلوا'

Table 1- The ANOVA results for the effect of gibberellic acid, magnetic field and temperature application on some morphological traits of strawberry fruits cv. Selva

منابع تغییر Source of variation	میانگین مربعات Mean square				
	درجه آزادی DF	وزن میوه Fruit weight	درصد کاهش وزن میوه Weight loss(%)	قطر میوه Fruit diameter	طول میوه Fruit lenght
تکرار Replicatin	2	97.97**	37.76**	64.12*	135.24*
جیبرلیک اسید Gibberellic acid	2	223.00**	477.40*	330.60**	981.80*
میدان مغناطیسی Magnetic field	2	30.25**	8.12*	41.17*	817.70*
دما Tempraure	2	6.70**	4.93**	5.43**	9.02*
جیبرلیک اسید × میدان مغناطیسی Gibberellic acid ×Magnetic field	4	29.70**	2.02**	15.70**	96.80**
جیبرلیک اسید ×دما Gibberellic acid ×Magnetic field	4	6.95**	1.90**	4.30**	30.15**
میدان مغناطیسی ×دما Temprature× Tempraure	4	9.60**	3.42*	8.62*	85.90**
جیبرلیک اسید × میدان مغناطیسی ×دما Acid Jiberlic × Magnetic field × Tempraure	8	5.48**	54.36**	3.34**	38.83**
اشتباه Error	48	1.15	0.08	0.45	0.08
ضریب تغییرات CV (%)		7.82	4.50	2.39	7.03

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

*, ** are respectively significant at the 5%, 1% probability level and ns non-significant

درصد رطوبت میوه

نتایج نشان داد که اثرات ساده جیبرلیک اسید، میدان مغناطیسی و دما و همچنین اثرات متقابل دو گانه و سه‌گانه فاکتورهای تحقیق در سطح آماری ۱ درصد بر میزان رطوبت میوه معنی‌دار شد (جدول ۲). میانگین اثر متقابل سه‌گانه تیمار جیبرلیک اسید × میدان مغناطیسی × دما برای میانگین رطوبت میوه نشان داد که بیشترین مقدار رطوبت میوه، در تیمار مصرف ۵۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلیک اسید و میدان مغناطیسی ۱۰ میلی‌تسلا و دمای ۸ درجه سانتی‌گراد معادل ۳۴/۶۵ درصد حاصل شد. کمترین مقدار رطوبت میوه نیز معادل ۱۴/۷۴ درصد در تیمار عدم مصرف جیبرلیک اسید، عدم وجود میدان مغناطیسی و دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد بدست آمد (جدول ۳). درجه حرارت محیط دارای اثر قطعی بر سرعت متابولیسم محصول از جمله تنفس می‌باشد. با افزایش دما سرعت واکنش‌ها افزایش یافته و سوخت و ساز مواد ذخیره‌ای سلول افزایش می‌یابد (Zomo *et al.*, 2014)، در این پژوهش نیز افزایش دما سبب کاهش مقدار رطوبت میوه گردید. ممکن است عبور میدان مغناطیسی از بافت میوه سبب تغییر در آرایش یونی آب موجود در میوه گردد و این امر باعث ایجاد تغییراتی در ماندگاری میوه ایجاد نماید (Benam, 2014).

اسیدیته قابل تیتراسیون (TA)

نتایج نشان داد که اثرات ساده جیبرلیک اسید، میدان مغناطیسی و دما و همچنین اثرات متقابل دو گانه و سه‌گانه فاکتورهای تحقیق در سطح آماری ۱ درصد بر اسیدیته قابل تیتراسیون معنی‌دار شد (جدول ۲). مقایسه میانگین اثر متقابل سه‌گانه تیمار جیبرلیک اسید × میدان مغناطیسی × دما برای میانگین اسیدیته قابل تیتراسیون نشان داد که بیشترین مقدار اسیدیته قابل تیتراسیون، در تیمارهای عدم مصرف جیبرلیک اسید، عدم وجود میدان مغناطیسی و دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد و تیمار عدم مصرف جیبرلیک اسید، عدم وجود میدان مغناطیسی و دمای ۸ درجه سانتی‌گراد معادل ۰/۸۹ درصد بدست آمد و این تیمارها در یک کلاس آماری قرار داشتند و با هم اختلاف معنی‌دار نداشتند. کمترین مقدار اسیدیته قابل تیتراسیون نیز معادل ۰/۳۱ درصد در تیمار مصرف ۵۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلیک اسید و میدان مغناطیسی ۱۰ میلی‌تسلا و دمای ۸ درجه سانتی‌گراد بدست آمد (جدول ۳). مقدار اسیدهای قابل تیتراسیون، با رسیدگی محصول در ارتباط بوده و موجب طعم ترش در میوه‌ها و سبزی‌ها می‌گردد و با رسیدن میوه، میزان اسیدهای آلی کاهش می‌یابد، همچنین میزان اسید اسکوربیک توت فرنگی به تدریج در طول دوره ذخیره‌سازی کاهش می‌یابد (Khabazipour *et al.*, 2014). کاهش اسید اسکوربیک در نگهداری طولانی مدت ممکن است عمدتاً به دلیل تبدیل سریع اسید اسکوربیک اسید به دهیدرو اسید اسکوربیک باشد (Habibi, 2014). طبق گزارش باسین (Bains *et al.*, 2017) کاربرد جیبرلیک اسید ۳۰۰ پی‌پی‌ام باعث تأخیر در رسیدن و مانع از کاهش مقدار اسیدیته قابل تیتراسیون در موز شد (Esitken and Turan, 2004). افزایش اسیدیته قابل تیتراسیون در شرایط اولیه ممکن است ناشی از بیوسنتز بیش از حد اسید اگزالیک و غلظت مالیک اسید با پیشرفت رسیدن باشد (Raso and Heinz, 2007). زومو و همکاران (Zomo *et al.*, 2014) افزایش میزان اسیدیته قابل تیتراسیون را در حین فرآیند رسیدن مشاهده کردند، اما بالاترین میزان اسیدیته قابل تیتراسیون، در میوه‌های تیمار شده با جیبرلیک اسید بود.

pH آب میوه

نتایج نشان داد که اثرات ساده جیبرلیک اسید، میدان مغناطیسی و دما و همچنین برهمکنش دو گانه و سه‌گانه این تیمارها در سطح آماری ۱ درصد بر pH آب میوه معنی‌دار شد (جدول ۲). در مقایسه میانگین اثر متقابل سه‌گانه تیمار جیبرلیک اسید × میدان مغناطیسی × دما برای میانگین PH آب میوه نشان داد که بیشترین مقدار pH آب میوه، در تیمار عدم مصرف جیبرلیک اسید، عدم استفاده از میدان مغناطیسی و دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد معادل ۶/۹ بدست آمد. کمترین مقدار pH آب میوه نیز معادل ۴/۶۸ در تیمار مصرف ۵۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلیک اسید، استفاده از میدان مغناطیسی ۱۰ میلی‌تسلا و دمای ۸ درجه سانتی‌گراد بدست آمد (جدول ۳). به‌نظر می‌رسد اسید جیبرلیک با حفظ سفتی میوه و تنظیم‌آنزیم‌های رسیدگی و تأخیر در فرایند پیر شدن میوه (Zhang *et al.*, 2015 و Zomo *et al.*, 2014) تنفس و تولید اتیلن جلوگیری و در مجموع باعث حفظ کیفیت میوه‌ها می‌گردد. این احتمال وجود دارد که در پایان دوره نگهداری میوه‌ها به علت رسیدگی زیاد، تولید اتیلن افزایش یافته و در نتیجه میزان اسیدیته میوه کاهش شدیدتری نشان دهد. همان‌طوری که بنام (Benam, 2014) بیان نموده، اثر متقابل میدان مغناطیسی در طول مدت انبارداری بر pH میوه توت فرنگی معنی‌دار و این تیمارها سبب کاهش میزان pH آب میوه گردید و تغییر در خصوصیات وابسته به ماندگاری میوه از جمله میزان pH آب میوه در اثر عبور میدان مغناطیسی، ممکن است به دلیل ایجاد تغییر در آرایش یونی آب موجود در بافت میوه باشد (Benam, 2014).

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس سطوح مختلف تیمارهای جیبرلیک اسید، دما و میدان مغناطیسی و اثر متقابل آنها بر صفات بیوشیمیایی توت فرنگی

Table 2- Results of analysis of variance of different levels of gibberellic acid, temperature and magnetic field treatments and their interaction on biochemical traits of strawberries

منابع تغییر Source of variation	درجه ازادی df	میانگین مربعات Mean square رطوبت میوه Fruit moisture (%)	اسید کل TA (%)	pH آب میوه
تکرار Replicatin		28.63**	0.19*	39.63*
جیبرلیک اسید Acid Jiberlic	2	1061.62**	0.82**	4.06**
میدان مغناطیسی Magnetic field	2	227.22**	0.27**	1.85**
دما Tempraure	2	23.24**	0.07**	0.10**
جیبرلیک اسید × میدان مغناطیسی Acid Jiberlic ×Magnetic field	2	61.93**	0.04**	0.41**
جیبرلیک اسید ×دما Acid Jiberlic ×Magnetic field	4	2.69**	0.03**	0.11**
میدان مغناطیسی ×دما Tempratrure× Tempraure	4	7.25**	0.05**	0.11**
جیبرلیک اسید × میدان مغناطیسی ×دما Acid Jiberlic × Magnetic field × Tempraure	4	8.93**	0.01**	0.13**
اشتباه Errore	8	0.01	0.64	0.02
ضریب تغییرات (درصد)CV%		8.48	8.82	2.46

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

*, ** are respectively significant at the 5%, 1% probability level and ns non-significant

علت افزایش pH را می‌توان به آزادسازی بیشتر برخی از ترکیبات اسیدی از جمله برخی از اسیدهای فنولی موجود در بافت داخلی میوه در اثر تغییرات دمایی نسبت داد (Ariaei *et al.*,2014). بخشابادی و همکاران (Bakhshabadi *et al*, 2017) با بررسی بهینه‌سازی و مدل سازی استخراج روغن از سیاهدانه به کمک پیش تیمارهای میدان الکتریکی پالسی و ریزموج، بیان نمودند که افزایش شدت میدان الکتریکی و تعداد پالس منجر به افزایش اسیدیته روغن گردید.

ویتامین C

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثرات ساده جیبرلیک اسید، میدان مغناطیسی و دما و همچنین اثرات متقابل دو گانه و سه‌گانه این تیمارها در سطح آماری ۱ درصد بر میزان ویتامین C معنی‌دار شد (جدول ۲). مقایسه میانگین اثر متقابل سه‌گانه جیبرلیک اسید × میدان مغناطیسی × دما برای میانگین ویتامین C نشان داد که بیشترین مقدار ویتامین C، معادل ۳۴/۹۲ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر در تیمار مصرف ۵۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلیک اسید، استفاده از میدان مغناطیسی ۱۰ میلی‌تسلا و دمای ۸ درجه سانتی‌گراد بدست آمد. کمترین مقدار ویتامین C نیز معادل ۲۰/۵ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر در تیمار عدم مصرف جیبرلیک اسید، عدم استفاده از میدان مغناطیسی و دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد بدست آمد (جدول ۳). کاهش مقادیر ویتامین C بیشتر در طول مدت ذخیره قابل توجه است، بخصوص درصورتیکه میوه‌ها در محفظه‌های نفوذپذیر اکسیژن نگهداری شوند (Racuciu *et al.*, 2008). جیبرلیک اسید با جلوگیری از تولید اتیلن، کاهش تنفس و به تأخیر انداختن پیری سبب جلوگیری از تجزیهٔ دیوارهٔ سلولی و در نتیجه باعث کاهش تولید رادیکال‌های آزاد می‌شود و در اثر پایین بودن میزان رادیکال‌های آزاد نیاز سلول به مصرف اسید آسکوربیک کمتر شده و در نتیجه ویتامین C در میوه حفظ می‌شود (Ozkan *et el.*, 2016). ژانگ و همکاران (Zhang *et al.*, 2015) بیان داشتند که استفاده از میدان الکتریکی پالسی در توان‌های کمتر، منجر به افزایش میزان ویتامین C نسبت به نمونه فاقد تیمار شد در حالی که با افزایش توان، از میزان ویتامین C کاسته شد (Zomo *et el.*, 2014). علت افزایش میزان ویتامینC این بود که تیمار میدان مغناطیسی، ساختار و قطبیت ویتامین C را تغییر می‌دهد و در نتیجه فراهم کردن الکترون برای سنتز ویتامین C آسان‌تر خواهد بود (Pietruszewski, 1996).

جدول ۳- اثر متقابل جیبرلیک اسید× میدان مغناطیسی × دما بر خصوصیات فیزیولوژیکی توت فرنگی رقم 'سلوا'

Table 3- The interaction effects of gibberellic acid× magnetic field ×temperature on some physiological characteristics of strawberry fruits cv. Selva

دما Temperature	میدان مغناطیسی Magnetic field	جیبرلیک‌اسید GA_3	رطوبت میوه Fruit (٪) moisture	اسید کل TA (٪)	PHآب میوه Fruit juice	ویتامین‌ث Vita.C (100ml/mg)
		G1	6.12n	0.88b	6.13b	22.13m
	D1	G2	16.55m	0.89a	6.09b	22.24m
		G3	14.74o	0.89a	6.90a	20.50n
		G1	16.09n	0.87a	6.04b	23.37ki
H1	D2	G2	16.89l	0.80e	6.14b	24.53ij
		G3	17.05l	0.78f	6.12b	24.52ij
		G1	16.37m	0.73i	6.08b	22.14m
	D3	G2	24.12j	0.86d	6.04b	22.90l
		G3	24.15j	0.87c	6.06b	23.48k
	D1	G1	22.56k	0.75j	5.90bc	24.00j
		G2	24.22j	0.74j	5.90bc	25.24h
		G3	24.23j	0.75j	5.85bc	24.90hi
H2	D2	G1	30.51d	0.68j	5.13c	28.65g
		G2	34.65a	0.31t	4.68d	34.92a
		G3	34.62a	0.33s	5.12cd	34.33b
		G1	32.01c	0.58n	5.70c	34.17b
	D3	G2	32.38b	0.52o	5.45c	33.34d
		G3	32.4b	0.32s	5.60c	33.12d
		G1	26.45h	0.78f	5.80bc	33.04d
	D1	G2	26.37h	0.65k	5.70c	31.00f
		G3	26.05i	0.64k	5.90bc	28.43g
		G1	27.40g	0.59k	5.60c	34.03b
H3	D2	G2	28.45f	0.33s	5.55c	33.40cd
		G3	28.46f	0.34s	5.18c	33.13d
		G1	27.43g	0.43q	5.19c	31.60e
	D3	G2	29.45e	0.04p	5.44c	33.90bc
		G3	29.42e	0.52o	5.42c	25.20h

$G_۱$ (شاهد)، $G_۲$ (۵۰ میلی‌گرم در لیتر) و $G_۳$ (۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) ، $S_۱$ (شاهد)، $S_۲$ (۱۰ میلی‌تسلا) و $S_۳$ (۲۰ میلی‌تسلا)، تنش H_1، H_2 و H_3 شامل ۲، ۸ و ۲۰ درجه سانتی‌گراد

در هر ستون میانگین های دارای حروف مشترک (حروف کوچک برای اثر متقابل) در سطح احتمال ۵٪ آزمون LSD دارای اختلاف معنی‌دار نیستند.

In each column, means with the same letters (small letters for interactions) are not significantly different at 5% probability level using LSD test

نتیجه‌گیری

بررسی نتایج نشان داد که اثر تیمارهای مورد استفاده در این پژوهش، بر صفات مورد مطالعه معنی‌دار بود. میانگین اثر متقابل سه‌گانه تیمار جیبرلیک اسید × میدان مغناطیسی × دما نشان داد که بیشترین مقدار وزن میوه، قطر میوه، طول میوه، رطوبت میوه، مقدار ویتامین C و همچنین کمترین مقدار اسیدیته قابل تیتراسیون و مقدار pH آب میوه در تیمار مصرف ۵۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلیک اسید، میدان مغناطیسی ۱۰ میلی‌تسلا و دمای ۸ درجه سانتی‌گراد حاصل گردید. بنابراین بهترین تیمار مؤثر بر افزایش مدت زمان نگهداری توت فرنگی، تیمار ترکیبی مصرف ۵۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلیک اسید و میدان مغناطیسی ۱۰ میلی‌تسلا و دمای ۸ درجه سانتی‌گراد بود که

این تیمار ترکیبی می‌تواند در افزایش عمر پس از برداشت توت فرنگی مؤثر باشد. از جمله تغییرات نامطلوب در زمان پس از برداشت می‌توان به کاهش استحکام و سفتی بافت میوه اشاره کرد. رسیدن موجب کاهش در سفتی میوه و در نتیجه افزایش حساسیت آن به پاتوژن‌ها در زمان نگهداری میوه می‌شود. این جنبه مهم‌ترین عامل در کاهش عمر میوه در دوره بعد از برداشت بوده و از اهمیت تجاری و اقتصادی بالایی نیز برخوردار است. لذا استفاده از تیمارهای مختلف از جمله تیمارهای مورد بررسی در این پژوهش از جمله راهکارهای مهم در افزایش ماندگاری میوه توت فرنگی می‌باشد.

منابع

1. Aladjadjiyan, A. (2007). The use of physical methods for plant growing stimulation in Bulgaria. *Journal Central European Agriculture, 8*, 369-380. https://doi.org/10.2478/johr-2018-0019
2. Ariaei, H., Zare, D., Mirdamadi, S., & Naghizadeh Raisi, Sh. (2014). Sensory evaluation of strawberry juice by fuzzy logic and evaluation of its antioxidant activity during cryopreservation. *Quarterly Journal of New Food Technologies, 1*, 111-128. https://doi.org/10.22104/JIFT.2020.4361.2000
3. Andrews, P.K., & Li, S. (1995). Cell wall hydrolytic enzyme activity during development of non climacteric sweet cherry (*Prunus avium* L.) fruit. *Journal of Horticultural Science, 70*, 561-567.
4. Benam, G. (2014). Investigation of the effect of magnetic field and temperature changes on the shelf life of apricot fruit. *Technical Journal*, No. 21. Extension Office of Tabriz Agricultural Jihad Organization.
5. Bains, B.K., Sharma, M., & Singh, S.K. (2017). Quality regulation in banana through post-harvest treatment with ethylene and ethylene inhibitors. *Research Crops, 18*(4), 656-66. https://doi.org/10.5958/2348-7542.2017.00131.0
6. Bakhshabadi, H., Mirzaei, H., Ghodsvali, A., Jafari, S.M., Ziaiifar, A.M., & Bigbabaie, A. (2017). Optimizing the Eextraction process of oil from black cumin seeds by using pulsed electric field (PEF) Pretreatment. *Journal of Research and Innovation in Food Science and Technology, 6*(3), 221-231. https://doi.org/10.1051/ocl/2019050
7. Belyavskaya, N.A. (2004). Biological effect due to weak magnetic field on plants. *Advances in Space Research, 34*, 1566-1574.
8. Brahmachari, V.S., & Rani, R. (2005). Shelf life extension in guava with ere-harvest spray of certain growth substances and polyethylene wrapping. *Haryana Journal of Horticulture Science, 34*, 36-38.
9. Cao S., Hu, Z., & Pang, B. (2010). Optimization of postharvest ultrasonic treatment of strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology abbreviation, 55*, 3-150. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2009.11.002
10. Çetin, V. (2002). Plant growth regulators in used fruits and vegetables. *Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi Dergisi., 2*, 40–50.
11. Daulta, B.S., & Beniwal, V.S. (1983). Effect of time of application, chemicals and concentration of plant growth regulators on composition of fruit in sweet orange cv. Campbell Valencia. *Haryana Journal of Horticultural Sciences, 12*, 168-172.
12. Dhawi, F., Al-Khayri, J.M., & Hassan, E. (2009). Static magnetic field influence on elements composition in date palm (*Phoenix dactylifera* L.). *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences (Online), 5*, 161-167.
13. Efe, L., Mustafayv, S.A., & Kili, F. (2004). Stimulative effect of high voltage electrical current on earliness, yield and fiber quality of cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Pakistan Journal of Biological Sciences, 7*, 494-502.
14. El-Kosavi, S. (2009). Effect of NAA, GA_3 and Cytophex spraying on Samany and Zaghloul date palm yield, fruit retained and characteristics. *Journal of Horticultural Science and Ornamental Plants, 1*, 49-59.
15. El-Otmani, M., & Coggins, C.W. (19910. Growth regulator effects on retention of quality of stored citrus fruits. *Scientia Horticulturea, 45*(3-4), 261-272.
16. Esitken, A., & Turan, M. (2004). Alternating magnetic field effects on yield and plant nutrient element composition of strawberry (*Fragaria x ananassa* cv. Camarosa). *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B - Soil and Plant Science, 54*(3), 135-139.
17. Esna-Ashari, M., & Zokaee Khosroshahi, M.R. (2009). *Postharvest Physiology and Technology*. Abu-Ali Sina University Press. P. 658. (In Persian)
18. Facteau, T.J., Rowe, K.E., & Chestnut, N.E. (2003). Response patterns of gibberellic acid- treated sweet cherry fruit at different solids leaves and leaf/ fruit ratio. *Scientia Horticulture, 27*, 257-262.
19. Florez, M., Carbonell, M.V., & Martinez, E. (2007). Exposure of maize seeds to stationary magnetic fields: Effects on germination and early growth. *Environmental Experimental Botany, 59*, 68-75. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2005.10.006
20. Habibi, M. (2014). *Investigation of the effects of gibberellic acid in plants*. Promotional Publication, No. 32. Kohgiluyeh and Boyer-Ahmad Agricultural and Natural Resources Research Center.
21. Khabazipour, A., Eftekhari, S., A.Moalemi, N., & Mortazavi, S.M.H. (2014). *The effect of foliar application of gibberellic acid and paclobutrazol on vegetative and reproductive growth of two strawberry cultivars*. Production and Processing of Agricultural and Horticultural Products.

22. Khan Kashi, L., Tabatabai Klor, R., & Hashemi, S.J. (2019). Investigation of the effect of polyethylene thickness, gas composition and temperature on shelf life and quality of strawberries. *Research and Innovation in Food Science and Industry*, 377-392. https://doi.org/10.22101/JRIFST.2019.02.23.743
23. Khoshkhoi, M., Sheibani, B., Rohani, I., & Tafazzoli, E. (2007). *Principles of Horticulture*. Shiraz University Press. Shiraz. (In Persian)
24. Kordas, L. (2002). The effect of magnetic fieldon growth, development and the yield of spring wheat. *Polish Journal of Environmental Studies*, *11*, 527-530.
25. Mohamed, A.K.A. (2004). Effect of gibberellic acid (GA_3) and benzyladinine (BA) on splitting and quality of Manfalouty pomegranate fruits. *Assuit Journal of Agricultural Science*, *35*, 11-21.
26. Ozkan, Y., Ucar, M., Yildiz, K., & Ozturk, B. (2016). Pre-harvest gibberellic acid (GA_3) treatments play an important role on bioactive compounds and fruit quality of sweet cherry cultivars. *Scientia Horticulturae*, *211*, 358-362. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.09.019
27. Perez, F., & Gomez, M. (2000). Possible role of invertase in the gibberellic acid berry- sizing effect in sultana grape. *Journal of Plant Growth Regulation*, *69*, 111-116.
28. Phalsaphy, P. (2012). National Strawberry Festival in Sanandaj. Available from: URL http://www.kurdpress.com/Fa/NSite/FullStory/New s. Accessed May 23. (In Persian)
29. Pietruszewski, S. (1996). Effects of magnetic biostimulation of wheat seeds on germination, yield and proteins. *International Agrophysics*, *10*, 51-56.
30. Rabiee V., Nasiri L., Hamzehzad, K.H., & Hemati, S. (2009). Investigation of the effects of radiation and calcium chloride on the quality and storage life of peach fruit of saffron cultivar. *Iranian Journal of Horticultural Sciences*, *40*(4).
31. Racuciu, M., Creanga, D., & Horga, I. (2008). Plant growth under static magnetic field influence, *Romania Journal Physics*, *53*, 353-359.
32. Raso, J., & Heinz, V. (2007). Pulse electric fields technology for the food industry. *Fundamentals and Applications*, *3*(8), 144-146.
33. Riberio, C., Vicente, A.A., Teixeira, J.A., & Miranda, C. (2007). Optimization of edible coating composition to retard strawberry fruit senescence. *Postharvest Biology and Technology Abbreviation*, *44*, 63-70.
34. Majd, A., & Shabrangi, A. (2009). *Effect of seed pretreatment by magnetic field on seed germination and ontogeny of agricultural plants*. Progress in Electromagnetic Symposium, Beijing, China, 23-27 March: 1137-1141.
35. Marinkovic, B., Ilin, Z., Marinkovic, J., Culibrk, M., & Jacimovic, G. (2002). *Corn and sugarbeet yield in function variable electromagnetic field*. Biophysics in Agriculture Production, University of Novi Sad, Tampograf. 154p.
36. Saberi, M., Tawili, A., & Miri, M. (2014). The effect of different levels of gibberellic acid and salicylic acid on improving the germination of *Festuca arundinacea* under stress with allopathic compounds. *Journal of Natural Environment, Natural Resources of Iran*, *67*(4), 424-415.
37. Sindhu, S., & Singhrot, R.S. (1993). Effect of pre-harvest spray of growth regulator and fungicides on the shelf life of Lemon cv. Baramasi. *Haryana Journal of Horticulture Science*, *22*, 204-206.
38. Watanabe, M., Segawa, H., Murakami, M., Sagawal, S., & Komor, S. (2008). Effects of plant growth regulators on fruit set and fruit shape of parthenocarpic apple fruits. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, *77*, 350-357.
39. Wszelaki, A.L.M. (2003). Effect of combinations of hot water dips biological control and controlled atmospheres for control of gray mold on harvested strawberries. *Postharvest Biology and Technology Abbreviation*, *27*, 64-255.
40. Zhang, Z., Zeng, X., Brennan, C., Brennan, M., Han, Z., & Xiong, X. (2015). Effects of pulsed electric fields (PEF) on vitamin C and its antioxidant properties. *International Journal of Molecular Sciences*, *16*, 24159-24173. https://doi.org/10.3390/ijms161024159
41. Zomo, S.A, Ismail, S.M., Jahan, M., Kabir, K., & Kabir, M.H. (2014). Chemical properties and shelf life of Banana (*Musa sapientum* L.) as influenced by different postharvest treatments. *Journal of Agricultural Science*, *12*(2), 6-17. https://doi.org/10.3329/agric.v12i2.21725

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

Research Article
Vol. 37, No. 2, Summer 2023, p. 351-362

Investigating the Effect of Foliar Applied Proline on the Photosynthetic Pigments Content and Osmolytes of Pistachio Rootstock UCB1 under Water Stress Conditions

M. Fattahi[1*]- A. Mohammadkhani[2]

Received: 23-02-2022 Revised: 30-08-2022 Accepted: 11-09-2022 Available Online: 11-09-2022	**How to cite this article:** Fattahi, M., & Mohammadkhani, A. (2023). Investigating the effect of foliar applied proline on the photosynthetic pigments content and osmolytes of pistachio rootstock UCB1 under water wtress conditions. *Journal of Horticultural Science, 37*(2), 351-362. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jhs.2022.75455.1145

Introduction

UCB-1 hybrid rootstock is propagated from the seed of a controlled cross between a *P. atlantica* female and a *P. integerrima* male. Clonal propagation of this rootstock is also necessary since it produces identical genotypes. UCB1 has recently been introduced in Iran. However, little research has been done on this subject. Water stress is one of the most important environmental stresses and occurs for several reasons, including low rainfall, high and low temperatures, salinity, and high intensity of light, among others. Drought stress is a multidimensional stress and causes changes in the physiological, morphological, biochemical, and molecular traits in plants. Proline is also found widely in plants and accumulates in large quantities in response to environmental stresses such as drought. It is the essential amino acids that accumulate in different tissues of the plant, especially in the leaves through the effect of water stress, and that the accumulation of it has a function in the regulation of osmosis in the cell as the proline is increased in the cytoplasm to counterbalance effort osmosis cell sap. Proline is an indicator of water stress tolerance and its increase in the leaf proof that the plant suffered drought stress, also is the way the plant tolerance to drought stress.

Materials and Methods

A pot experiment was conducted, to investigate the effectiveness of foliar applied proline in mitigating the concurrent effects of drought stresses on UCB1 rootstock, at greenhouse of Faculty of Agriculture, University of Shahrekord. Experiment was carried out in a completely randomized design with split arrangement having three replications. Chl. and carotenoid contents were determined according to Lichtenthaler (1987). Leaf discs were obtained from expanded leaves of each pot in the morning. The leaf discs were weighed immediately to obtain the fresh weight (FW), and submerged in distilled water for 4 h at 4°C in dark condition and then weighed to prepare turgor weight (TW). The leaves were dried in a forced-air oven at 70°C for 24 h, and the dry weight (DW) was recorded. The RWC of samples was calculated using the following equation (Bastam *et al*., 2012): RWC = [(FW–DW)/(TW–DW)] × 100

Levels of glycine betaine were quantified as described previously by Arakawa *et al*. (1990). To determine the free-proline concentration, leaves were homogenized in 5 ml of ethanol at 95%. Proline concentration was calculated with a standard curve and expressed as µg g^{-1}fresh mass (Paquin and Lechasseur, 1979).

Results and Discussion

The UCB1 proximate analysis in the present study depicted that imposition of drought stress increased the

1- Instructor of Horticultural Products Department, Technical and Vocational University, Tehran, Iran
(*- Corresponding Author Email: Ma.fatahi67@gmail.com)
2- Asociated Professor at Department of Horticultral Sciences, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Iran
DOI: 10.22067/jhs.2022.75455.1145

leaf and root proline content and electrolyte leakage. Exogenous application of proline as foliar spray significantly increased the moisture content of leaf and root, RWC, Chl a and total chlorophyll. Exogenous proline application upregulated leaf and root proline contents and decreased the lipid peroxidation (decrease electrolyte leakage), resulting into improvement in chlorophyll contents. 150 mg. l^{-1} proline application gave maximum alleviation against stress.

Numerous reports depict that the exogenous application of proline as a foliar spray can play an important role in enhancing plant tolerance against drought stress, and our results are consistent with them. This ameliorating effect of exogenously applied proline can take the form of osmoprotection, cryoprotection, or protection against reactive oxygen species.For example, in various plant species growing under stress conditions, exogenously supplied proline provided osmoprotection and facilitated plant growth. Normally, proline accumulation in plants, is in response to drought or salinity stress occurs in the cytosol where it contributes substantially to the cytoplasmic osmotic adjustment. It actively takes part in plant osmotic adjustment under stressful environmental conditions. In addition to its role as an osmolyte for osmotic adjustment, it actively takes part to stabilize subcellular structures, biological membranes, proteins, and scavenge free radicals. It also plays a vital role in buffering cellular redox potential under stressful environmental conditions.

Conclusion

In summary, our results showed that, drought induces a decrease in moisture content, RWC, T Chl and carotenoids and an increase in some osmoregulators (proline, glycine betaine, TSC). The most favorable treatment was 150 mg.l-1 proline foliar spray. 150 mg.l^{-1} proline application gave maximum alleviation against stress. Foliar application increased the moisture content of leaf and root, as well as increased the Chl a, total, RWC and proline content of leaf and root. It can be suggested that the foliar application of proline (150 mg L^{-1}) used as a plants defense factor against drought stress conditions.

Keywords: Amino acid, Drought, Electrolyte leakage, Relative leaf water content

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

مقاله پژوهشی
جلد ۳۷، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۲، ص. ۳۶۲-۳۵۱

بررسی تاثیر محلول‌پاشی پرولین بر میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی و اسمولیت‌های پایه UCB1 پسته در شرایط تنش آبی

مسعود فتاحی[1*] - عبدالرحمان محمدخانی[2]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۲/۰۴
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۶/۰۸
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۶/۲۰

چکیده

باتوجه به مشکلات کم‌آبی در بیشتر مناطق ایران استفاده از اسیدهای آمینه می‌تواند در کاهش اثرات زیانبار تنش خشکی بر محصولات مختلف مانند کاهش رشد و عملکرد موثر باشد. زیرا اسیدهای آمینه مانند پرولین منجر به تنظیم بهتر اسمزی سلول شده و به ادامه فعالیت سلول در شرایط تنش خشکی کمک می‌کند. در این راستا آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار بصورت گلدانی طراحی و اجرا شد. تیمارهای استفاده شده در این آزمایش شامل اعمال تنش خشکی در سه سطح (۱۰۰ درصد (شاهد)، ۷۰ و ۴۰ درصد ظرفیت زراعی) و محلول‌پاشی برگی پرولین در سه سطح (صفر (شاهد)، ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر آب) بود. نتایج نشان داد، درصد رطوبت ریشه در تیمار ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر آب پرولین نسبت به شاهد بیشتر بود. با افزایش شدت تنش خشکی غلظت کلروفیل a، b، کل و کارتنوئیدها کاهش یافت. هر دو سطح تیمار پرولین باعث افزایش کلروفیل کل نسبت به تیمار عدم محلول‌پاشی پرولین (سطح صفر) گردید. گلایسین‌بتائین برگ، قند محلول برگ و ریشه، نشت الکترولیت‌ها و پرولین برگ و ریشه با شدت تنش خشکی افزایش یافت. محلول‌پاشی پرولین باعث کاهش نشت الکترولیت و افزایش محتوای نسبی آب برگ (LRWC) و پرولین برگ و ریشه گردید. نتایج نشان داد محلول‌پاشی برگی پرولین می‌تواند با افزایش درصد رطوبت برگ و ریشه، RWC، غلظت کلروفیل، غلظت پرولین برگ و ریشه و کاهش نشت الکترولیت‌ها تحمل پایه UCB1 در برابر کمبود آب را بهبود دهد.

واژه‌های کلیدی: اسید آمینه، خشکی، محتوای نسبی آب برگ، نشت الکترولیت

مقدمه

پسته اهلی (*Pistacia vera* L.) گیاهی نیمه‌گرمسیری از تیره پسته‌سانان[3] است. ایران مهم‌ترین تولیدکننده پسته و مرکز تنوع گونه‌های پسته در دنیا می‌باشد (Bagheri *et al.*, 2012). در کشت و کار پسته، پایه یکی از مهم‌ترین مسائلی است که بایستی در هنگام احداث باغ به آن توجه نمود. در جنس پسته ۱۳ گونه وجود دارد که تنها میوه‌های گونه ورا مصرف خوراکی دارد و سایر گونه‌ها و برخی هیبریدهای آن‌ها به عنوان پایه برای ژنوتیپ‌های تجاری پسته استفاده می‌شوند. مهم‌ترین این پایه‌ها عبارتند از: پسته اهلی شامل ژنوتیپ بادامی‌ریززرند، قزوینی، سرخس، خنجری، بنه یا چاتلانقوش، کسور یا خنجوک، آتلانتیکا، تربنتوس، اینتگریما و UCB1[4] که از گرده‌افشانی دستی کنترل شده گرده‌های گونه اینتگریما (والد پدری) روی کلاله‌های گونه آتلانتیکا (والد مادری) بدست آمده است (Raoufi *et al.*, 2020;Ferguson *et al.*, 2005).

رشد جهانی جمعیت و تقاضا برای آب، مواد غذایی، انرژی و استفاده بی‌رویه از منابع آب موجود از یک طرف و از طرف دیگر

۱- مربی گروه تولیدات باغی، دانشگاه فنی و حرفه‌ای، تهران، ایران
(*- نویسنده مسئول: (Email: Ma.fatahi67@gmail.com
۲- دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران
DOI: 10.22067/jhs.2022.75455.1145

3- Anacardiaceae
4- University of California, Berkley

تغییرات اقلیمی گسترده باعث ایجاد تنش خشکی شده است. محدودیت آب در گیاهان باعث کم شدن آب بافت، بسته شدن روزنه ها، محدود شدن تبادلات گازی، کاهش فتوسنتز و در نهایت مرگ گیاه می‌شود. با این حال توانایی گیاه برای زنده ماندن تحت شرایط ذکر شده بستگی به گونه گیاهی، مرحله رشد، مدت زمان و شدت کمبود آب دارد (Raoufi *et al.*, 2020Khoyerdi *et al.*, 2016;). در تحقیقات مختلف ثابت شده که پاسخ گیاهان به تنش خشکی معمولا از طریق تغییر در شاخص‌های فیزیولوژیکی از قبیل پتانسیل آب، محتوای نسبی آب، واکنش‌های روزنه‌ای، فتوسنتز و تنظیم اسمزی انجام می‌شود (Bolat *et al.*, 2014). خویردی و همکاران (Khoyerdi *et al.*, 2016) در ارزیابی مقاومت به خشکی دانهال‌های پسته نشان دادند که تنش خشکی سبب کاهش محتوای نسبی آب برگ، کلروفیل، کارتنوئید، پرولین، گلایسین بتائین و قندهای محلول نسبت به تیمار شاهد گردید. آن‌ها بیان کردند تجمع مواد و تنظیم‌کننده اسمزی باعث بهبود روابط آبی و تولید وزن خشک بیشتر در شرایط تنش خشکی می‌شود.

تنظیم اسمزی متضمن افزایش در تعداد مولکول‌های محلول درون سلول‌ها در پاسخ به کاهش پتانسیل آب خارجی است. در اثر فرایندهای تعدیل اسمزی، مواد حل شوندهای نظیر اسیدهای آلی، اسیدهای آمینه آزاد بویژه پرولین، کربوهیدرات‌ها (ساکارز، گلوکز، سوربیتول، مانیتول، گلیسرول و ترهالوز) و ترکیبات آمونیومی متیله‌شده‌ای نظیر گلایسین‌بتائین در سیتوپلاسم سلول‌ها تجمع پیدا می کند. این ترکیبات از طریق کاهش پتانسیل اسمزی سلول شرایط لازم برای رشد را فراهم می‌کنند (Volkmar and Taylor, 1996 ; Steppuhn, 1997). این مواد حل‌شونده که به متابولیت‌های سازگار یا مواد تنظیم کننده اسمزی معروفند، ترکیبات آلی خنثی، غیرسمی و آبدوست هستند که در غلظت‌های بالا، تاثیر مخربی بر فعالیت درشت مولکول‌ها یا فعالیت آنزیمی سلول‌ها ندارند. تجمع پرولین آزاد، یکی از معمول‌ترین تغییرات متابولیکی است که تحت تاثیر تنش‌های مختلف به‌ویژه تنش خشکی در گیاهان گزارش شده است (Taylor, 1996). همچنین به عنوان یکی از عوامل کنترل کننده آب سلول در کاهش اثرات مضر کم آبی و در نتیجه بهبود رشد و ویژگی‌های فیزیولوژیکی مانند محتوای نسبی آب برگ و غلظت کلروفیل نقش دارد (*et al.*, Alkahtan 2021). کاربرد خارجی پرولین با کاهش اثرات مضر گونه‌های فعال اکسیژن و آسیب اکسیداتیو باعث افزایش رشد گیاهان مختلف از جمله گل همیشه‌بهار و جو شده است (Kaur and Asthir, 2015; Abdelaal *et al.*, 2018; Abdelaal *et al.*, 2020). همچنین بیان شده که این اسیدآمینه در تنش‌های غیرزنده باعث ایجاد تغییرات ساختاری و فراساختاری مانند بهبود سطح ریشه گیاهان شده و باعث مقابله با کمبود آب و مواد مغذی می شود (Godoy *et al.*, 2021). اثرات مثبت پرولین در افزایش تعداد ریشه و ایجاد تغییرات ساختاری در ساقه و برگ برنج در تنش شوری مشاهده شده (The *et al.*, 2016) همچنین کاربرد آن باعث بهبود روابط آبی در گیاه چغندر شده است (Ghaffaria *et al.*, 2021). در پژوهشی که بر روی ذرت انجام شد نتایج نشان داد که محدودیت در آبیاری منجر به کاهش رشد و میزان کلروفیل a و b گردید اما استفاده از محلول‌پاشی برگی پرولین باعث بهبود رشد و افزایش رنگدانه‌های فتوسنتزی شد (Ali *et al.*, 2007). در بررسی تاثیر محلول‌پاشی پرولین بر مقاومت به شوری نهال‌های زیتون نتایج نشان داد در اثر تنش شوری، روابط آبی، فعالیت فتوسنتزی و محتوای کلروفیل کل کاهش یافت اما کاربرد خارجی پرولین، باعث افزایش فعالیت فتوسنتزی و خصوصیات رشدی نسبت به گیاهانی که با پرولین تیمار نشده بودند شد (Ben-Ahamed *et al.*, 2010). در مطالعه دیگر تاثیر محلول‌پاشی پرولین بر خصوصیات آنتی اکسیدانی سه گونه مرکبات در شرایط تنش دمایی بررسی شد که نتایج نشان داد محلول‌پاشی پرولین باعث کاهش اثرات دمای بالا گردید و سطح پرولین درون‌زا افزایش یافت (Mohammadrezakhani *et al.*, 2019). محلول‌پاشی اسیدآمینه پرولین به منظور کاهش اثرات مخرب تنش‌ها در محصولات مختلف استفاده شده و نتایج مثبتی گزارش شده است. از طرف دیگر، با توجه به این‌که بیشتر مناطق پسته کاری ایران با محدودیت آب مواجه هستند، بنابراین بررسی تاثیر کمبود آب بر خصوصیات مختلف پایه UCB1 به عنوان یک پایه که در حال گسترش است ضروری می‌باشد. هدف از این پژوهش بررسی اثر محلول‌پاشی سطوح مختلف پرولین بر صفات بیوشیمیایی (برخی رنگدانه‌های برگ و اسمولیت‌های برگ و ریشه) و فیزیولوژیکی (میزان آب برگ و درصد رطوبت برگ، ساقه و ریشه) گیاهان UCB1 تحت رژیم‌های کم آبیاری در شرایط گلدانی بود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به منظور بررسی تاثیر کاربرد برگی پرولین بر خصوصیات فیزیولوژیکی پایه پسته UCB1 در شرایط تنش آبی بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار، هر تکرار شامل سه گیاه، در شرایط گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد (در ارتفاع ۲۰۷۴ متری از سطح دریا ۳۲ درجه و ۲۱ دقیقه عرض شمالی و طول شرقی ۴۹ درجه و ۲۲ دقیقه) در سال ۱۳۹۶ انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل تنش خشکی در سه سطح ۱۰۰ (شاهد)، ۷۰ و ۴۰ درصد ظرفیت زراعی و محلولپاشی پرولین نیز در سه سطح صفر (شاهد)، ۷۵ و ۱۵۰ میلی گرم در لیتر بود. دانهال‌های کشت بافتی UCB1 (دارای ۳ تا ۵ برگ تهیه‌شده از یک آزمایشگاه کشت بافت اصفهان) پس از سازگار شدن به محیط گلخانه، در گلدان‌های ۵ لیتری دارای بستر کشت مخلوط خاک و ماسه به نسبت دو به یک با

پی‌اچ ۷/۵۴ و هدایت الکتریکی ۰/۹ دسی‌زیمنس بر متر کاشته شدند و به مدت ۳ ماه در گلخانه با میانگین دمای ۲۸ درجه سانتیگراد رشد کردند. تنش خشکی بعد از سه ماه براساس ظرفیت زراعی، بصورت وزنی با محدودیت آب آبیاری به مدت ۶۰ روز اعمال گردید. پرولین استفاده شده در این آزمایش از شرکت مرک آلمان با خلوص ۹۵ درصد بود. محلول‌پاشی پرولین در سه مرحله، به ترتیب یک مرحله قبل از آغاز اعمال تنش خشکی (۳ ماه پس از کاشت) و دو مرحله در طول اعمال تنش (۲۰ و ۴۰ روز پس از اعمال تنش) انجام شد گیاهان شاهد نیز در این سه مرحله با آب مقطر بدون پرولین اسپری شدند. پس از پایان تنش خشکی اندام‌های ریشه، ساقه و برگ پایه UCB1 جدا شد و وزن تر آن‌ها محاسبه گردید. سپس اندام‌های مختلف به مدت ۷۲ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتیگراد قرار داده شدند تا خشک شوند و وزن خشک محاسبه شد. با استفاده از وزن تر و خشک این اندام‌ها درصد رطوبت هر اندام با استفاده از رابطه زیر برآورد گردید.

وزن تر/ {۱۰۰ × (وزن تر – وزن خشک)} = درصد رطوبت اندام

میزان کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کارتنوئیدها بعد از اعمال تنش با استفاده از روش لیچنتالر (Lichtenthaler, 1987) با نمونه‌گیری تصادفی از برگ‌های بالغ و عصاره‌گیری با استون اندازه‌گیری شد.

$$Chla\ (mg.g^{-1}\ fw) = \{12.25\ (A663.2) - 2.79\ (A646.8)\} \times V/1000 \times W$$

$$Chlb\ (mg.g^{-1}\ fw) = \{25.51(A646.8) - 5.10\ (A663.2)\} \times V/1000 \times W$$

$$ChT\ (mg.g^{-1}\ fw) = Chlb + Chla$$

$$Car\ (mg.g^{-1}\ fw) = [(1000\ (A470) - 1.8\ (chla) - 85.02\ (chlb)\ /198]$$

در روابط فوق A میزان جذب قرائت شده، V حجم استون مصرف شده و W وزن خشک نمونه (گرم) می‌باشد.

برای اندازه‌گیری میزان نسبی آب برگ (RWC)، ابتدا ۱۰ عدد دیسک به قطر ۰/۵ سانتی‌متر از پهنک برگ بالغ و جوان به‌وسیله پانچ تهیه و وزن تر (FW) تعیین گردید. پس از توزین داخل شیشه‌های حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر به مدت ۴ ساعت در دمای صفر الی ۴ درجه سانتی‌گراد در تاریکی قرار گرفت تا سلول‌های برگ به حالت تورژسانس کامل درآیند. در ادامه دیسک‌ها را روی کاغذ صافی قرار داده تا رطوبت اضافی آن‌ها حذف شود، سپس وزن تورژسانس (TW) نمونه‌ها تعیین شد و درون آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک و وزن خشک (DW) اندازه‌گیری شد. سپس RWC با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید.

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

به منظور تعیین پایداری غشاء سلولی در برگ، از اندازه‌گیری میزان نشت الکترولیت به روش بستام و همکاران (Bastam *et al.*, 2013) استفاده شد. برای اندازه‌گیری غلظت پرولین آزاد، یک گرم از برگ و ریشه نهال‌ها در ۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد همگن شد. پس از جداسازی فاز مایع از جامد، معرف ناین‌هیدرین و اسید استیک گلاسیال به نمونه‌ها افزوده و در حمام آب گرم (۴۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه‌سانتیگراد) قرار داده شدند. پس از اضافه کردن ۱۰ میلی‌لیتر بنزن، جذب در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت شد. غلظت پرولین با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه گردید (Paquin and Lechasseur, 1979). گلایسین بتائین نمونه‌های برگ و ریشه خشک شده در دمای ۵۵ درجه‌سانتیگراد به روش آراکاوا و همکاران (Arakawa *et al.*, 1990) با استفاده از محلول ید در یدید پتاسیم اندازه‌گیری شد. قند محلول برگ و ریشه به روش اریگون و همکاران (Irigoyen *et al.*, 1992) با استفاده از آنترون تازه تهیه‌شده و قرائت میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۶۲۵ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد.

تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار *SPSS* 25 و مقایسه بین میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد ($p<0.05$) صورت گرفت و نمودارها توسط نرم افزار اکسل رسم شدند.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثرات متقابل تنش خشکی و پرولین بر درصد رطوبت برگ و درصد رطوبت ساقه معنی‌دار بود. همچنین اثرات ساده تیمارهای خشکی بر درصد رطوبت ریشه، کلروفیل a، b، کل و کارتنوئیدها و تیمارهای پرولین بر درصد رطوبت ریشه، کلروفیل a و کل در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار گردید (جدول ۱).

نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد تنش خشکی به‌طور معنی‌داری باعث کاهش درصد رطوبت ریشه، نسبت وزن خشک شاخساره به ریشه، کلروفیل a، b، کل و کارتنوئیدها شد (جدول ۲). کمترین نسبت وزن خشک شاخساره به ریشه و درصد رطوبت ریشه به ترتیب با میانگین ۰/۶۲ و ۴۳/۸ درصد در سطح ۴۰ درصد ظرفیت زراعی تنش خشکی مشاهده شد. همچنین محتوای کلروفیل کل در بالاترین سطح تنش خشکی به میزان ۵۰/۹ درصد در مقایسه با شاهد کاهش یافت. محتوای کارتنوئید برگ تنها در سطح ۴۰ درصد ظرفیت زراعی تنش خشکی نسبت به شاهد کاهش یافت و بین سطح ۷۵ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۲).

جدول ۱- تجزیه واریانس اثرات تنش خشکی و محلول‌پاشی پرولین بر محتوای رطوبت، کلروفیل a، b، کل و کارتنوئیدها در پایه UCB1

Table 1- ANOVA for the effects of drought stress and proline application on moisture content, chlorophyll a, b, total and carotenoids in UCB1 rootstock

		میانگین مربعات Mean squares						
منابع تغییرات Source of variation	درجه آزادی DF	رطوبت برگ Leaf moisture	رطوبت ساقه Stem moisture	رطوبت ریشه Root moisture	کلرفیل a Chl a	کلرفیل b Chl b	کلرفیل کل Chl T	کارتنوئیدها Carotenoids
خشکی Drought	2	483.9*	863.5*	2433.5**	1.36 **	0.19 **	2.53 **	0.13 **
پرولین Proline	2	287.0 ns	21.9 ns	308.7*	0.35 *	0.04 ns	0.62 *	0.01 ns
خشکی × پرولین Drought × Proline	4	669.7*	877.6*	214.2 ns	0.01 ns	0.04 ns	0.04 ns	0.01 ns
خطا Error	18	182.7	260.3	100.5	0.07	0.03	0.12	0.01
CV (%)		12.7	9.7	17.5	3.2	4.9	3.8	7.6

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

ns, ** and *: non-significant, significant at $p \leq 0.01$ and $p \leq 0.05$, respectively

در شرایط محدود آب، قدرت جذب ریشه کاهش یافته و دسترسی به آب و مواد غذایی کمتر می‌شود و درصد رطوبت ریشه کاهش می‌یابد. همچنین در شرایط تنش‌خشکی روزنه‌ها بسته شده و منجر به کاهش جذب آب توسط ریشه گیاه می‌گردد زیرا در چنین شرایطی انرژی لازم برای جذب آب وجود ندارد (Farooq *et al.*, 2009 ; Bolat *et al.*, 2014). کاهش غلظت رنگیزه‌های گیاهان UCB1 در شرایط تنش خشکی با پژوهش خویردی و همکاران (Khoyerdi *et al.*, 2016) بر روی پایه‌های مختلف پسته در شرایط تنش خشکی مطابقت دارد. کاهش در محتوای کلروفیل ممکن است به دلیل کاهش سنتز کلروفیل، افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده کلروفیل (کلروفیلاز) و تخریب مولکولی کلروفیل به علت جدا شدن زنجیره فیتولی از حلقه پورفیرین در اثر تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن باشد (Parvaiz and Satyawati, 2008). از طرفی با توجه به افزایش نشت الکترولیت‌ها در اثر تنش خشکی ممکن است کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی به علت تخریب غشاء کلروپلاست و تیلاکوئیدها باشد (Giri *et al.*, 2002; Hussain *et al.*, 2008 ; Parvaiz and Satyawati, 2008). افزایش غلظت پرولین در شرایط تنش می‌تواند باعث کاهش کلروفیل گردد زیرا پرولین و کلروفیل دارای پیش ماده مشترک (گلوتامات) می‌باشند و خشکی باعث تحریک تولید پرولین با افزایش فعالیت گلوتامین کیناز می‌شود (Verbruggen and Hermans, 2008). کاهش محتوای کارتنوئیدها در شرایط تنش شدید خشکی ممکن است به علت آسیب‌های اکسیداتیو باشد زیرا آن‌ها به تخریب اکسیداتیو بسیار حساس می‌باشند (Fattahi *et al.*, 2015). استفاده از محلول‌پاشی برگی پرولین با غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر آب باعث افزایش نسبت وزن خشک شاخساره به ریشه و درصد رطوبت ریشه نسبت به شاهد شد، همچنین محتوای کلروفیل a نیز با افزایش غلظت پرولین افزایش یافت و تفاوت آن با شاهد معنی‌دار بود. هر دو سطح ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر پرولین باعث افزایش کلروفیل کل نسبت به گیاهان شاهد گردید. استفاده از تیمار پرولین باعث افزایش غلظت کلروفیل a و کل شد. افزایش کلروفیل در اثر محلول‌پاشی پرولین ممکن است به نقش پرولین در پایداری پروتئین‌ها و غشاء برگردد که از طریق باندهای هیدروژن‌دار با پلی‌پپتیدهای قطبی و فسفولیپیدها ایجاد می‌شود (Weiss, 2000). پرولین با فسفولیپیدهای غشاء ارتباط برقرارکرده و از طریق کاهش رادیکال‌های آزاد ناشی از تنش خشکی، از غشاهای سلولی محافظت می‌کند. بنابراین این احتمال می‌رود که کاهش نشت الکترولیت‌ها در اثر محلول‌پاشی پرولین به علت تخریب کمتر غشاء (پایداری غشاء) باشد که نهایتا باعث تخریب کمتر کلروفیل شده است (Bandurska, 2001).

جدول ۲- اثرات ساده تنش خشکی و محلول‌پاشی پرولین بر رطوبت ریشه، کلروفیل a، b، کل و کارتنوئیدها در پایه UCB1

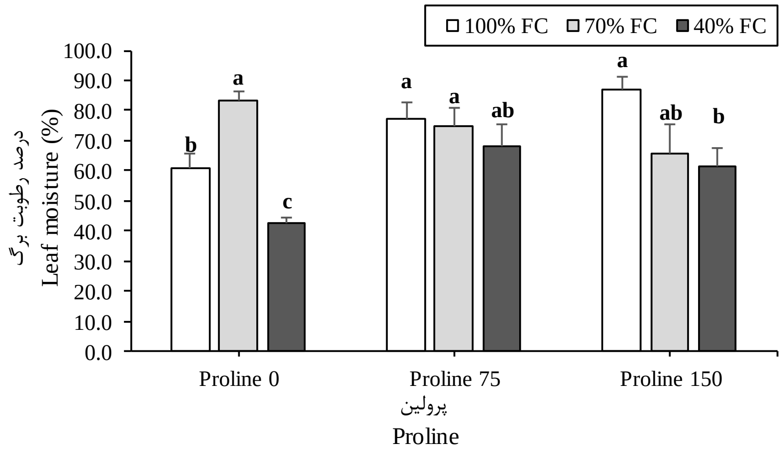
Table 2- The effects of drought stress and proline application on the root moisture, chlorophyll a, b, total and carotenoids in UCB1 rootstock

تیمارها Treatment	وزن خشک شاخساره به ریشه Shoot to root DW	رطوبت ریشه Root moisture (%)	کلرفیل a Chl a (mg.g^{-1} FW)	کلرفیل b Chl b (mg.g^{-1} FW)	کلرفیل کل Chl T (mg.g^{-1} FW)	کارتنوئیدها Carotenoid (mg.g^{-1} FW)
Drought خشکی						
100% FC	1.08^{a}	75.5^{a}	1.54^{a}	0.55^{a}	2.08^{a}	0.84^{a}
70% FC	0.99^{a}	67.5^{a}	1.12^{b}	0.39^{ab}	1.50^{b}	0.85^{a}
40% FC	0.62^{b}	43.8^{b}	0.75^{c}	0.26^{b}	1.02^{c}	0.63^{b}
Proline پرولین						
0 PPm	0.70^{b}	56.5^{b}	0.92^{b}	0.32^{ns}	1.25^{b}	0.74^{ns}
75 PPm	0.75^{ab}	62.1^{ab}	1.18^{ab}	0.43^{ns}	1.62^{a}	0.76^{ns}
150 PPm	0.82^{a}	68.2^{a}	1.31^{a}	0.45^{ns}	1.75^{a}	0.82^{ns}

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

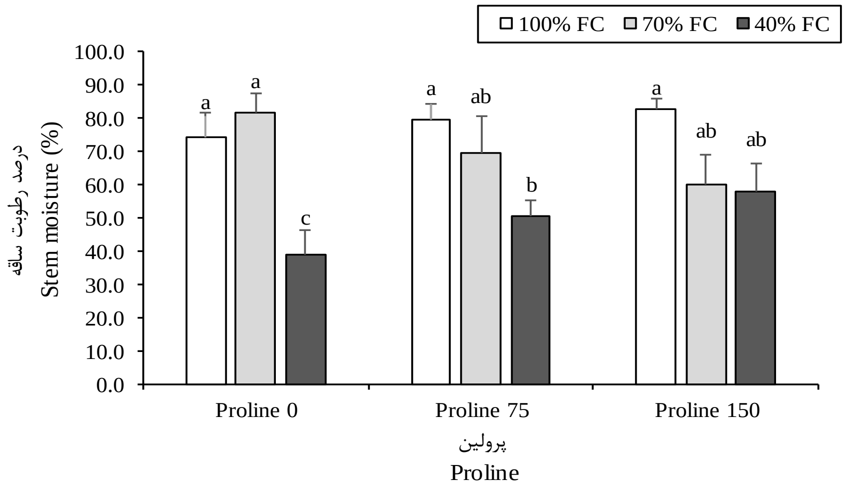
Means followed by the same letter within each column shows no significant differences among treatments at 5% of probability level based on Duncan's multiple rane test.

درصد رطوبت برگ در اثر تنش خشکی کاهش یافت و کمترین مقدار آن در سطح تنش ۴۰ درصد ظرفیت زراعی و عدم محلول‌پاشی پرولین (شاهد) مشاهده شد (شکل ۱). محلول‌پاشی پرولین باعث افزایش درصد رطوبت برگ نسبت به شاهد گردید اما در سطح ۷۵ درصد ظرفیت زراعی تفاوتی بین تیمار پرولین و عدم تیمار وجود نداشت (شکل ۱). نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد درصد رطوبت ساقه در اثر تنش خشکی در گیاهان شاهد و ۷۵ میلی‌گرم در لیتر آب پرولین کاهش یافت و کمترین درصد رطوبت ساقه مربوط به تیمار ۴۰ درصد ظرفیت زراعی و عدم محلول‌پاشی برگی پرولین (شاهد) بود. در محلول‌پاشی ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر آب پرولین بین سطح ۱۰۰ و ۴۰ درصد ظرفیت زراعی تنش خشکی از نظر درصد رطوبت ساقه تفاوت وجود داشت که از نظر آماری در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار گردید (شکل ۲). کاهش میزان رطوبت اندام‌ها در شرایط محدودیت آبیاری، ممکن است به علت بسته شدن روزنه‌ها و کاهش تعرق باشد که نهایتا منجر به کاهش انرژی لازم برای جذب آب می‌شود (Rahneshana *et al*., 2018). همچنین در شرایط تنش، ظرفیت رشد ریشه‌ها کاهش یافته و مناطق کمتری از خاک را پوشش می‌دهند. بنابراین ظرفیت گیاه برای جذب آب کمتر شده و سبب کاهش میزان رطوبت خواهد شد (Chelli-Chaabouni *et al*., 2010؛ Rahneshana *et al*., 2018). افزایش درصد رطوبت اندام‌ها در اثر محلول‌پاشی پرولین به عنوان املاح سازگار به نقش تنظیم‌کننده اسمزی پرولین و حفاظت از واکنش‌های فیزیولوژیک برمی‌گردد که با کاهش پتانسیل اسمزی در بافت‌های مختلف باعث ایجاد نیروی لازم جهت جذب آب شده و تحمل بهتر به تنش خشکی را در گیاهان القاء می‌کند (Verbruggen and Hermans, 2008).



شکل ۱- اثر متقابل تنش خشکی × محلول‌پاشی پرولین بر درصد رطوبت برگ پایه UCB1

Figure 1- The interaction effect of drought stress ×proline spraying on the leaf moisture (%) of UCB1 rootstock (DMRT, *p≤0.05*)



شکل ۲- اثر متقابل تنش خشکی × محلول‌پاشی پرولین بر درصد رطوبت ساقه پایه UCB1

Figure 2- The interaction effect of drought stress ×proline spraying on the stem moisture (%) of UCB1 rootstock (DMRT, *p≤0.05*)

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر تنش خشکی و محلول‌پاشی پرولین بر اسمولیت‌ها، محتوای نسبی آب برگ و نشت الکترولیت‌ها در پایه UCB1

Table 3- ANOVA for the effect of drought stress and proline application on osmolytes, RWC and electrolyte leakage in UCB1 rootstock

منابع تغییرات Source of variation	درجه آزادی Df	میانگین مربعات Mean squares							
		گلایسین بتائین برگ Leaf glycine betaine	گلایسین بتائین ریشه Root glycine betaine	قند محلول برگ Leaf soluble sugar	قند محلول ریشه Root soluble sugar	پرولین برگ Leaf Proline	پرولین ریشه Root proline	محتوای نسبی آب برگ RWC	نشت الکترولیت Electrolyte leakage
خشکی Drought	2	28297.5^{**}	19808.6^{*}	24269652^{**}	3126723^{*}	37267.9^{**}	26814.7^{**}	4794.2^{**}	1337.4^{**}
پرولین Proline	2	50530.3^{*}	2825.1^{ns}	4933350^{ns}	1150121^{ns}	61520.4^{*}	3231.1^{*}	798.5^{*}	591.1^{*}
خشکی × پرولین Drought × Proline	4	5871.4^{ns}	9112.1^{ns}	2683075^{ns}	26852^{ns}	6881.6^{ns}	9715.6^{ns}	98.4^{ns}	20.7^{ns}
خطا Error	18	12027.7	5281.9	1983106	732090	19037.5	6172.7	217.2	143.5
CV (%)		15.8	12.4	7.1	15.3	17.6	21.3	14.3	6.9

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

ns, ** and *: non-significant, significant at $p≤0.01$ and $p≤0.05$, respectively

با توجه به جدول آنالیز واریانس، اثر ساده تنش خشکی بر گلایسین‌بتائین، قندمحلول و پرولین برگ و ریشه، محتوای نسبی آب برگ (RWC) و نشت الکترولیت‌ها و اثر ساده محلول‌پاشی برگی پرولین بر گلایسین بتائین برگ، پرولین برگ و ریشه، RWC و نشت الکترولیت معنی‌دار بود (جدول ۳).

براساس نتایج بدست آمده محدودیت آبیاری (۴۰ درصد ظرفیت زراعی) باعث افزایش گلایسین بتائین برگ و ریشه، قند محلول برگ و ریشه و نشت الکترولیت‌ها شد اما RWC کاهش یافت (جدول ۴). در شاخص‌های گلایسین بتائین، قند محلول و نشت الکترولیت‌ها تفاوت معنی‌داری بین شاهد با تنش خشکی در سطح ۷۰ درصد ظرفیت زراعی وجود نداشت. در اثر تنش شدید خشکی میزان RWC در مقایسه با شاهد ۵۸ درصد کاهش و نشت الکترولیت‌ها ۳۰/۷ درصد

افزایش یافت. در اثر محلول‌پاشی برگی پرولین میزان گلایسین بتائین برگ و نشت الکترولیت‌ها نسبت به شاهد کاهش یافت و RWC افزایش یافت. بیشترین محتوای نسبی آب برگ و کمترین نشت الکترولیت در تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر پرولین مشاهده شد (جدول۴). در اثر اعمال محدودیت در آبیاری محتوای پرولین برگ و ریشه به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش یافت. پرولین ریشه در هردو سطح ۷۰ و ۴۰ درصد ظرفیت زراعی با یکدیگر متفاوت بود اما در ارتباط با پرولین برگ بین این سطوح از تنش خشکی تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (شکل ۳). نتایج این آزمایش نشان داد که استفاده از محلول‌پاشی پرولین در غلظت‌های ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر در هردو اندام ریشه و برگ باعث افزایش پرولین درونزاد شد و این میزان افزایش در سطح ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر نسبت به سطح ۷۵ میلی‌گرم در لیتر پرولین بیشتر بود (شکل ۳). کاهش نشت الکترولیت‌ها در اثر محلول‌پاشی پرولین به نقش آن در تنظیم فشار اسمزی سلول و حفاظت از پروتئین‌ها، فسفولیپیدها و غشای سلول بر می‌گردد. از طرفی کاربرد خارجی پرولین باعث حفظ پتانسیل اسمزی در سلول‌های گیاهی شده و آماس سلولی و افزایش محتوای نسبی آب را در پی دارد (Shao *et al.*, 2008). کاهش RWC و افزایش نشت الکترولیت در شرایط تنش خشکی به علت کاهش عرضه آب و افزایش نفوذپذیری غشای پلاسمایی است، در چنین شرایطی محلول‌پاشی پرولین با تنظیم اسمزی و کاهش تنش اکسیداتیو ناشی از رادیکال‌های آزاد O_2^- و H_2O_2 باعث حفظ RWC در حد مناسب برای گیاه و کاهش نشت الکترولیت‌ها (آسیب به غشای پلاسمایی) می‌گردد (Khaled *et al.*, 2020).

تجمع املاح آلی سازگار مانند پرولین، گلایسین بتائین و قندهای محلول در شرایط تنش خشکی در گیاهان مختلف، از جمله پایه‌های دیگر پسته گزارش شده است (Khoyerdi Hussain *et al.*, 2008 ; *et al.*, 2016; Kumar *et al.*, 2017). همچنین پرولین خارجی باعث افزایش میزان پرولین داخلی گیاه در برگ و ریشه شد که با نتایج آزمایشات دیگر (Roozbehani *et al.*, 2018 ; Mohammadrezakhani *et al.*, 2019) مطابقت دارد. این املاح سازگار که دارای وزن مولکولی کم، غلظت‌های بالا و غیرسمی در سیتوسول می‌باشند، عمده‌ترین راهکار گیاهان برای تحمل شرایط تنش هستند. افزایش سنتز پرولین در شرایط تنش خشکی نیازمند مصرف انرژی است و درصورت ادامه افزایش تولید پرولین ممکن است سایر فعالیت‌ها و متابولیسم‌های گیاهی را تحت تاثیر قرار دهد. از طرف دیگر ممکن است افزایش پرولین منجر به تجزیه پروتئین‌ها گردد (Farooq *et al.*, 2015;Habibi *et al.*, 2010) که ممکن است کاهش غلظت گلایسین بتائین در اثر محلول‌پاشی پرولین (۱۵۰میلی‌گرم درلیتر) هم به خاطر همین مسئله باشد، در حالی که تنش خشکی باعث افزایش غلظت گلایسین‌بتائین گردید. تاثیر پرولین و دیگر مواد محلول سازگار، به دلیل نقش آن‌ها به عنوان اسمولیت و تخریب کننده رادیکال‌های آزاد است که منجر به بهبود خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی در شرایط تنش خشکی می‌شود (Okuma *et al.*, 2004; Abdelaal *et al.*, 2020; El-Nashaar *et al.*, 2020). در زمان تجمع املاح محلول، پتانسیل اسمزی سلول‌ها کاهش می‌یابد که این حالت آب را به داخل سلول جذب می‌کند و باعث حفظ حالت تورژسانس می‌شود (Farooq *et al.*, 2015). با این تدبیر فعالیت‌های سیتوپلاسمی حفظ شده و کمک می‌کند تا گیاه به‌طور کارآمدتری شرایط محدودیت آب را تحمل کند.

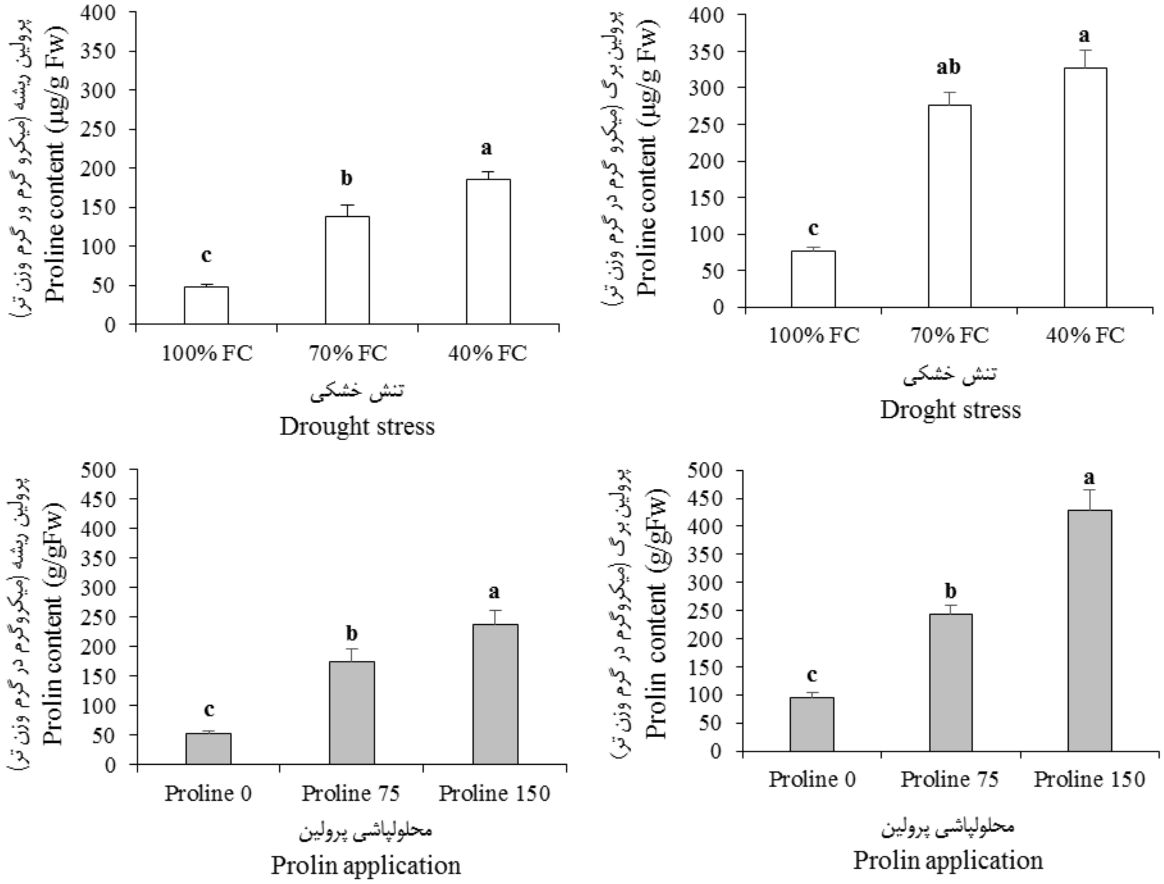
جدول ٤- اثر تنش خشکی و محلول‌پاشی پرولین بر اسمولیت‌ها، محتوای نسبی آب برگ و نشت الکترولیت‌ها در پایه UCB1

Table 4- The effect of drought stress and proline application on osmolytes, RWC and electrolyte leakage in UCB1 rootstock

تیمارها Treatment	گلایسین بتائین برگ Leaf glycine betaine	گلایسین بتائین ریشه Root glycine betaine	قند محلول برگ Leaf soluble sugar	قند محلول ریشه Root soluble sugar	محتوای نسبی آب برگ RWC	نشت الکترولیت Electrolyte leakage
خشکی Drought						
100% FC	256.1[b]	198.3[ab]	2611.5[b]	2122.6[b]	79.3[a]	54.5[b]
70% FC	306.9[b]	165.2[b]	3792.1[b]	25.5.2[ab]	56.8[b]	63.9[b]
40% FC	436.9[a]	257.8[a]	5855.9[a]	3279.5[a]	33.2[c]	78.7[a]
Prolineپرولین						
0 PPm	407.5[a]	227.3[ns]	4919.8[ns]	3032.9[ns]	47.3[b]	73.5[a]
75 PPm	334.7[ab]	193.9[ns]	3835.1[ns]	2534.4[ns]	56.7[ab]	66.3[ab]
150 PPm	257.7[b]	200.1[ns]	3504.5[ns]	2339.9[ns]	65.3[a]	57.3[b]

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means followed by the same letter within each column shows no significant differences among treatments at 5% of probability level based on Duncan’s multiple range test.



شکل ۳- اثر ساده تنش خشکی و محلول‌پاشی پرولین بر محتوی پرولین برگ و ریشه پایه UCB1

Figure 3- The effect of drought stress and proline spraying on the leaf and root proline of UCB1 rootstock (DMRT, *p≤0.05*)

نتیجه‌گیری

در این تحقیق درصد رطوبت اندام‌های ریشه، برگ و ساقه، غلظت رنگیزه‌های کلروفیل و کارتنوئید و RWC در اثر تنش خشکی کاهش و تنظیم کننده‌های اسمزی مانند قند محلول، گلایسین‌بتائین و پرولین و نشت الکترولیت‌ها افزایش یافت. با این وجود محلول‌پاشی برگی پرولین باعث بهبود نسبت وزن خشک شاخساره به ریشه، درصد رطوبت برگ و ریشه و RWC و کاهش نشت الکترولیت‌ها گردید. بنابراین با توجه به نتایج این تحقیق می‌توان نتیجه‌گیری کرد که کاربرد غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم درلیتر آب پرولین خارجی اثربخشی مناسب در کاهش اثرات خسارت‌بار تنش خشکی در پایه‌های پسته UCB1 دارد.

منابع

1. Alkahtani, M.D.F., Hafez, Y.M., Attia, K., Rashwan, E., Husnain, L.A., AlGwaiz, H.I.M., & Abdelaal K.A.A. (2021). Evaluation of silicon and proline application on the oxidative machinery in drought-stressed sugar beet. *Antioxidants*, *10*, 398.
2. Abdelaal, K.A.A., Attia, K.A., Alamery, S.F., El-Afry, M.M., Ghazy, A.I., Tantawy, D.S., Al-Doss, A.A., El-Shawy. E.S.E., Abu- Elsaoud. A.M., & Hafez. Y.M. (2020). Exogenous application of proline and salicylic acid can mitigate the injurious impacts of drought stress on barley plants associated with physiological and histological characters. *Sustainability*, *12*, 1736.
3. Abdelaal, K.A.A., Hafez, Y.M., El-Afry, M., Tantawy, D.S., & Alshaal, T. (2018). Effect of some osmoregulators on photosynthesis, lipid peroxidation, antioxidative capacity, and productivity of barley (*Hordeum vulgare* L.) under water deficit stress. Environ. *Science and Pollution Research*, *25*, 30199–30211. https://doi.org/10.1007/s11356-018-3023-x
4. Abdelaal, K.A.A., Mazrou, Y.S., & Hafez, Y.M. 2020. Silicon foliar application mitigates salt stress in sweet

pepper plants by enhancing water status, photosynthesis, antioxidant enzyme activity and fruit yield. *Plants*, *9*, 733.

5. Ali, Q., Ashraf, M., & Athar, H.R. (2007). Exogenously applied proline at different growth stages enhances growth of two maize cultivars grown under water deficit conditions. *Pakistan Journal of Botany*, *39*, 1133-1144.
6. Arakawa, K., Katayama, M., & Takabe, T. (1990). Levels of betaine and betaine aldehyde dehydrogenase activity in the green leaves, and etiolated leaves and roots of barley. *Plant Cell Physiology*, *31*(6), 797–803.
7. Bagheri, V., Shamshiri, M.H., Shirani, H., & Roosta, H. R. (2012). Nutrient uptake and distribution in mycorrhizal pistachio seedlings under drought stress. *Journal of Agricultural Science and Technology*, *14*, 1591–1604.
8. Bandurska, H. (2001). Does proline accumulated in leaves of water stressed barley plants confine cell membrane injury? I. Free proline accumulation membrane injury index in drought and osmotically stressed plant. *Acta Physiologiae Plantarum*, *22*, 409-415.
9. Bastam, N., Baninasab, B., & Ghobadi C. 2013. Improving salt tolerance by exogenous application of salicylic acid in seedlings of pistachio. *Plant Growth Regulation*, *69*, 279-284. https://doi.org/10.1007/s10725-012-9770-7
10. Ben Ahmed, C., BenRouina, B., Sensoy, S., Boukhriss, M., & Ben Abdullah, F. (2010). Exogenous proline effects on photosynthetic performance and antioxidant defense system of young olive tree. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, *58*, 7. https://doi.org/10.1021/jf9041479
11. Bolat, I., Dikilitas, M., Ercisli, S., Ikinci, A., & 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*, 769732, 8 pages.
12. Chelli-Chaabouni, A., Mosbah, A. B., Gargouri-Bouzid, R., & Drira, N. (2010). In vitro salinity tolerance of two pistachio rootstocks: *Pistacia vera* L. and *P. atlantica* Desf. *Environmental and Experimental Botany*, *69*, 302–312.
13. El-Nashaar, F., Hafez, Y.M., Abdelaal, K.A.A., Abdelfatah, A., Badr, M., El-Kady, S., & Yousef, A. (2020). Assessment of host reaction and yield losses of commercial barley cultivars to Drechslera trees the causal agent of net blotch disease in Egypt. *Fresenius Environmental Bulletin and Advances in Food Sciences*, *29*, 2371–2377.
14. Khoyerdi, F., Shamshiri, M.H., & Estaji, A. (2016). Changes in some physiological and osmotic parameters of several pistachio genotypes under drought stress. *Scientia Horticulturae*, *198*, 44–51.
15. Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., & Basra, S.M.A. (2009). Plant drought stress effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development*, *29*, 185-212.
16. Fattahi, M., Shamshiri, M., & Esmaeilizade, M. (2015). Leaf physiomorphological responses of three mycorrhizal Pistachio rootstocks (Sarakhs, Abareqi and Bane-baqi) to salt stress. *Iranian Journal of Horticultural Science and Technology*, *15*, 469-482. (In Persian with English abstract)
17. Ferguson, L., Reyes, H., Sanden, B., Grattan, S., Epstein, L., & Krueger, B. (2005). *Pistachio rootstocks*. In: Ferguson, L. (Ed.), Pistachio Production Manual. Center for Fruit and Nut Research and Information, Davis, pp. 67–73.
18. Ghaffaria, H., Tadayona, M.R., Bahadora, M., & Razmjoo, J. (2021). Investigation of the proline role in controlling traits related to sugar and root yield of sugar beet under water deficit conditions. *Agriculture Water Management*, *2021*, 243.
19. Giri, B.R., & Mukerji, K.G. (2002). *VA mycorrhizal techniques/VAM technology in establishment of plants under salinity stresses condition.* Techniques in mycorrhizal studies, Kluwer, Dordrecht, pp. 313-327.
20. Godoy, F., Olivos-Hernández, K., Stange, C., & Handford, M. (2021). Abiotic stress in crop species: improving tolerance by applying plant metabolites. *Plants*, *10*, 186.
21. Habibi, D., Ardakani, M.R., Mahmoudi, A., & Asgharzadeh, A. (2010). *Effects of super absorbent polymer and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield and oxidative damage of maize under drought stress*. International Conference on Chemistry and Chemical Engineering Pp: 253-257.
22. Hussain, M., Malik, M.A., Farooq, M., Ashraf, M.Y., & Cheema, A. (2008). Improving drought tolerance by exogenous application of glycinebetaine and salicylic acid in sunflower. *Journal of Agronomy and Crop Science, 194*, 193–199.
23. Irigoyen, J.J., Emerich, D.W., & Sanchie, M.D. (1992). Water stress induced changeing concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Physiologia plant Arum*, *84*, 67-72.
24. Kaur, G., & Asthir, B. (2015). Proline: A key player in plant abiotic stress tolerance. *Biologia Plantarum*, *59*, 609–619.
25. Khaled, A.A., Abdelaal, K.A., Attia, S.F., Alamery, M.M., El-Afry A.I., Ghazy D.S., Tantawy A.A., Al-Doss E., El-Shawy A.M., & Yaser M.H. 2020. Exogenous application of proline and salicylic acid can mitigate the injurious impacts of drought stress on barley plants associated with physiological and histological characters. *Sustainability*, *12*, 257. 1736. https://doi.org/10.3390/su12051736
26. Kumar, D., Al Hassan, M., Naranjo, M.A., Agrawal, V., Boscaiu, M., & Vicente, O. (2017). Effects of salinity and drought on growth, ionic relations, compatible solutes and activation of antioxidant systems in oleander (*Nerium oleander* L.). *PLoS ONE*, *12*(9), e0185017. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185017

27. Lichtenthaler, H.K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods of Enzymology, 148*, 350-380.
28. Mohammadrezakhani, S., Hajilou, J., Rezanejad, F., & Zaare-Nahandi, F. (2019). Assessment of exogenous application of proline on antioxidant compounds in three Citrus species under low temperature stress, *Journal of Plant Interactions, 14*(1), 347-358.
29. Okuma, E., Murakami, Y., Shimoishi, Y., Tada, M., & Murata, Y. (2004). Effect of exogenous application of proline and betaine on the growth of tobacco cultured cells under saline conditions. *Soil Science and Plant Nutrition*, *50*(8), 1301-1305.
30. Paquin, R., & Lechasseur, P. (1979). Observations sur un method de dosage de lapraline libre dans les extraits de plantes. *Canadian Journal of Botany, 57*, 1851–1854.
31. Parvaiz, A., & Satyawati, S. (2008). Salt stress and Phyto-biochemical responses of plants. *Plant Soil Environment*, *54*, 89-99.
32. Rahneshana, Z., Nasibia, F., & Ahmadi Moghadam, A. (2018). Effects of salinity stress on growth, physiological, biochemical parameters and nutrients in pistachio (*Pistacia vera* L.) rootstocks. *Journal of plant Interactions, 1*, 73–82. https://doi.org/10.1080/17429145.2018.1424355
33. Raoufi, A., Rahemi, M., Salehi, H., & Pessarakli, M. (2020). *Pistacia vera* L. genotypes; a potential rival for UCB-1 rootstock for cultivating under salt stress conditions. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 101515. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101515
34. Roozbehani, F., Mosavi Fard, S., & Rezaeinejad, A. (2018). *The effect of proline on some morphophysiological, physiological and biochemical properties of two varieties of Impatiens walleriana under salinity stress.* M.Sc. thesis. University of Lorestan. (In Persian).
35. Shao, H.B., Chu, L.Y., Shao, M.A., Abdul Jaleel, C. & Hong-Mei, M. (2008). Higher plant antioxidants and redox signaling under environmental stresses. *Comptes Rendus Biologie,s 331*, 433–441.
36. Taylor, B. (1996). Proline and water deficit: ups, downs, ins and outs. *The Plant Cell, 8*, 1221-1224.
37. the, C.Y., Shaharuddin, N.A., Ho, C.L., & Mahmood M. (2016). Exogenous proline significantly affects the plant growth and nitrogen assimilation enzymes activities in rice (*Oryza sativa*) under salt stress. *Acta Physiology Plant, 38*, 151.
38. Verbruggen, N., & Hermans, C. (2008). Proline accumulation in plants: a review. *Amino Acids, 35*, 753-759.
39. Volkmar, K.M., & Steppuhn, H. (1997). Physiological responses of plants to salinity: a review. *Canadian Journal of plant Science, 78*, 19-27.
40. Weiss, E.A. (2000). *Oilseed Crops*, 2nd Edition. Blackwell Sc. Ltd., Bodmin, UK. Bilimleri Dergisi 28, 14-27.

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

CC BY

Research Article
Vol. 37, No. 2, Summer 2023, p. 363-376

Study of Agronomic Traits, Yield Performance and Economical Indices in Intercropping of Spinach with Chickpea

J. Hamzei[1*], M. Khishvand[2]

Received: 18-03-2022
Revised: 16-07-2022
Accepted: 19-12-2022
Available Online: 19-12-2022

How to cite this article:
Hamzei, J., & Khishvand, M. (2023). Study of agronomic traits, yield performance and economical indices in intercropping of spinach with chickpea. *Journal of Horticultural Science*, *37*(2), 363-376. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jhs.2022.75899.1153

Introduction

Due to the limits of the conventional agricultural system, intercropping is important in terms of production sustainability. Intercropping plays an important role in increasing production and performance stability to improve the use of resources and environmental factors. Spinach (*Spinacia oleracea* L.) is an important leafy vegetable, of which the leaves and tender shoots are consumed fresh or processed. Spinach is native to Iran. Spinach contains different flavonoids that function as antioxidants and anticancer agents. Also, spinach may be used in the prevention of Alzheimer's disease. It is an annual plant and as well as chickpea, spinach is grown as both an early spring and late fall crop in order to have growth at the coolest parts of the season. Spinach seed yield varies based on the climatic conditions, optimum sowing date and chose of the best planting pattern. Considering that the intercropping of this plant has not been studied with legumes such as chickpe, this experiment was designed to determine the possibility of intercropping spinach with chickpea using agronomical and economical indices, as well as determining the best planting pattern.

Materials and Methods

In order to investigate agronomic traits, yield and economical indices in spinach intercropping with chickpea, an experiment was carried out as a randomized complete block design with four treatments and three replications in 2017-18 growing season in Tuyserkan city, Hamedan province. In this city, spinach is mainly cultivated for seed production. Experimental treatments included additive intercropping of 20% chickpea with spinach, replacement intercropping of 60% spinach + 40% chickpea and pure stand of spinach and chickpea. Plant height, number of branches per plant, number of seeds per plant, 1000 seed weight, grain yield and biological yield in spinach, as well as plant height, number of branches per plant, number of pods per plant, number of seeds per pod, 1000 seed weight, grain yield and biological yield in chickpea were measured. To compare the advantages of intercropping of spinach with chickpea, the land equivalent ratio (LER), dry matter equivalent ratio (DMER), system productivity index (SPI), competitive ratio (CR), aggressivity (AG), actual yield loss (AYL), relative value total (RVT), monetary advantage index (MAI) and intercropping advantage (IA) were calculated and evaluated. SAS 9.1 software were used for analysis of variance (ANOVA) calculations. The difference between the means was evaluated by the least significant difference (LSD) method at the level of 5% probability.

Results and Discussion

Plant height, number of branches per plant, 1000 grain weight and grain and biological yields of spinach were significantly affected by intercropping. The highest plant height and the lowest number of branches per spinach plant were obtained from the replacement intercropping. Additive intercropping and pure stand of spinach without significant difference had the lowest plant height and the highest number of branches per plant.

1 and 2- Associate Professor and Former M.Sc. Student, Department of Production Engineering and Plant Genetics, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: j.hamzei@basu.ac.ir)
DOI: 10.22067/jhs.2022.75899.1153

The highest 1000 grain weight and grain yield of spinach were associated with the additive intercropping method. However, in terms of biological yield, the pure stand of spinach showed the highest results. Notably, there were no significant differences between the treatments of additive intercropping and pure stand of spinach concerning grain and biological yield of spinach. On the other hand, in chickpeas plants, intercropping had a notable impact on various parameters. Specifically, plant height, number of branches per plant, number of pods per plant, 1000 grain weight, and both grain and biological yields were affected by the intercropping method. Among these, the additive intercropping treatment resulted in the highest plant height, while it had the lowest number of branches and number of pods per chickpeas plant.The highest 1000 grain weight and grain yield of spinach were related to the additive intercropping. Pure stand of spinach had the maximum biological yield. Treatments of additive intercropping and pure stand of spinach were not significantly different in terms of grain and biological yield of spinach. In chickpeas plant, plant height, number of branches per plant, number of pods per plant, 1000 grain weight, grain and biological yields were affected by intercropping. The highest plant height and the lowest number of branches and number of pods per chickpeas plant were obtained at the treatment of additive intercropping. Maximum grain and biological yields of chickpea were belonged to the pure stand of chickpea. Spinach and chickpea were dominant and recessive plants, respectively. Evaluation of the economical indices also showed the advantages of spinach intercropping with chickpea at both intercropping design (replacemet and additive intercropping). So that the highest values for land equivalent ratio, dry matter equivalent ratio, system productivity index, actual yield loss, relative value total and monetary advantage index were achieved at additive intercropping system. But, the lowest values for these indices (1.13, 1.06, 1.20 and 1321 for LER, DMER, RVT and MAI, respectively) were revealed at replacement intercropping.

Conclusion

Overall, the results indicate that chickpea is a suitable plant for intercropping with spinach. So that the intercropping of 20% chickpea with spinach improved the yield performance of spinach and land-use efficiency and can lead to the greatest economical profit.

Keywords: Beans, Land use efficiency, Multiple cropping, Vegetables, Yield

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

مقاله پژوهشی
جلد ۳۷، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۲، ص. ۳۷٦-۳٦۳

بررسی صفات زراعی، تولید محصول و شاخص‌های اقتصادی در کشت مخلوط اسفناج با نخود

جواد حمزه‌ئی[1*]– مسعود خیشوند[2]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۲/۲۷
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۴/۲۵
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۹/۲۸

چکیده

به‌منظور بررسی صفات زراعی، عملکرد و شاخص‌های اقتصادی در کشت مخلوط اسفناج با نخود، آزمایشی به صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تیمار و سه تکرار در سال زراعی ۹۶-۱۳۹۵ در شهرستان تویسرکان اجرا گردید. تیمارهای آزمایشی شامل کشت مخلوط افزایشی ۲۰ درصد نخود با اسفناج، کشت مخلوط جایگزینی ۶۰ درصد اسفناج + ۴۰ درصد نخود و کشت‌های خالص اسفناج و نخود بودند. ارتفاع بوته، تعداد شاخه در بوته و عملکرد دانه اسفناج به طور معنی‌داری تحت تأثیر کشت مخلوط قرار گرفتند. بیشترین ارتفاع بوته و کمترین تعداد شاخه در بوته اسفناج از کشت مخلوط جایگزینی به‌دست آمد. کشت مخلوط افزایشی و کشت خالص اسفناج نیز بدون تفاوت معنی‌دار کمترین ارتفاع بوته و بیشترین تعداد شاخه در بوته را داشتند. بیشترین عملکرد دانه اسفناج مربوط به کشت مخلوط افزایشی بود. تیمارهای کشت مخلوط افزایشی و کشت خالص از لحاظ عملکرد دانه و بیولوژیک اسفناج تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند. در گیاه نخود نیز ارتفاع بوته، تعداد شاخه در بوته، تعداد غلاف در بوته و عملکرد دانه تحت تأثیر کشت مخلوط قرار گرفتند. بیشترین ارتفاع بوته و کمترین تعداد شاخه و تعداد غلاف در بوته نخود از کشت مخلوط افزایشی به‌دست آمد. بیشترین عملکرد دانه نخود نیز مربوط به کشت خالص نخود بود. اسفناج و نخود به ترتیب گیاهان غالب و مغلوب بودند. ارزیابی شاخص‌های اقتصادی نیز سودمندی کشت مخلوط اسفناج با نخود را نشان دادند. به طوری که بالاترین نسبت برابری زمین، نسبت برابری ماده خشک، شاخص بهره‌وری سیستم و شاخص سودمندی مالی از کشت مخلوط افزایشی حاصل شد. در مجموع نتایج بیانگر این است که نخود گیاه مناسبی جهت کشت مخلوط با اسفناج است. به طوری که کشت مخلوط افزایشی ۲۰ درصد نخود با اسفناج، عملکرد اسفناج و کارایی استفاده از زمین را بهبود بخشیده و می‌تواند بیشترین سود اقتصادی را عاید کشاورز کند.

واژه‌های کلیدی: چند کشتی، حبوبات، سبزیجات، عملکرد، کارایی استفاده از زمین

مقدمه

کشاورزی پایدار تلفیقی از دانش مدیریت است که می‌تواند در بلندمدت از نظر بیولوژیکی، زیست محیطی و اقتصادی ارزش افزوده مطلوبی به‌همراه داشته باشد. یکی از راهکارهای کلیدی در کشاورزی پایدار بازگرداندن تنوع به محیط‌های کشاورزی و مدیریت مؤثر آن است (Seyedi and Hamzei, 2017).کشت مخلوط به‌عنوان یکی از مهمترین سیستم‌های کشاورزی قابل اجرا در بسیاری از کشورهای در حال توسعه می‌تواند به جهت تنوع محصولات و افزایش سود حاصله در واحد سطح و زمان از اهمیت ویژه‌ای برخوردار باشد (Ibrahim *et al*., 2014). درحقیقت کشت مخلوط یکی از نظام‌های کشاورزی پایدار است که مزایای اکولوژیکی، بیولوژیکی، اقتصادی و اجتماعی بیشتری نسبت به کشت خالص دارد (Iqbal *et al*., 2019). در این سیستم کاشت، هدف افزایش عملکرد در بعد زمان و مکان بوده و گیاهان با بیشترین کارایی، از منابع محیطی استفاده می‌کنند (Vrignon-Brenas *et al*., 2016). در کشت مخلوط گندم با نخود کارایی مصرف عناصر غذایی نسبت به تک‌کشتی افزایش یافت. به‌طوری که، تثبیت نیتروژن توسط نخود و استفاده بهینه گیاهان از

۱ و ۲- به‌ترتیب دانشیار و دانشجوی کارشناسی ارشد سابق، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: j.hamzei@basu.ac.ir)
DOI: 10.22067/jhs.2022.75899.1153

منابع موجود در خاک موجب افزایش حاصلخیزی خاک و نیز کارایی استفاده از زمین و کاهش شستشوی عناصر غذایی گردید (Latati et al., 2019). همینطور، از مهمترین فواید کشت مخلوط افزایش تولید در واحد سطح نسبت به تک کشتی، به‌دلیل استفاده بهتر از نور خورشید است. به‌طوری که کارایی مصرف نور در کشت مخلوط ذرت با لوبیا، به‌طور معنی‌داری بالاتر از کشت خالص گزارش شده است (Fatemi et al., 2021). همینطور کشت مخلوط، کارایی استفاده از زمین را بهبود بخشیده و برای سیستم‌های کشاورزی کم‌نهاده به‌ویژه در کشورهای در حال توسعه، قابل توصیه است (Koocheki et al., ; Kimura et al., 2018; Iqbal et al., 2019; Nawar and 2017 Khalil, 2020). به‌طور کلی بهبود عملکرد در سیستم‌های کشت مخلوط، در گرو انتخاب گیاهان سازگار و واجد صفات مناسب برای ایجاد حداقل رقابت و حداکثر همیاری و به‌کارگیری عملیات زراعی مناسب می‌باشد (Lithourgidis et al., 2011). برای ارزیابی ارزش اقتصادی الگوهای مختلف کشت مخلوط در مقایسه با کشت خالص از شاخص‌های نسبت برابری زمین، مجموع ارزش نسبی، بهره‌وری سیستم و سودمندی کشت مخلوط استفاده می‌شود. نسبت برابری زمین بیان می‌کند که برای به‌دست آوردن محصولی معادل عملکرد حاصل از یک هکتار کشت مخلوط، چه مقدار زمین به صورت تک‌کشتی مورد نیاز است. مجموع ارزش نسبی نیز بیانگر نسبت کل درآمد ناخالص کشت مخلوط به بیشترین درآمد کشت خالص است (Lithourgidis et al., 2011). در کشت مخلوط کنجد با لوبیا، بیشترین نسبت برابری زمین (۱/۵۹) از کشت مخلوط ۵۰ درصد کنجد با لوبیا به‌دست آمد (Koocheki et al., 2014). به‌دلیل تثبیت نیتروژن توسط ریشه گیاهان خانواده حبوبات و افزایش حاصلخیزی خاک، در اکثر مواقع یکی از گیاهان وارد شده به کشت مخلوط، حبوبات می‌باشد. گرایش به استفاده از حبوبات در سیستم‌های تولید سازگار با محیط زیست افزایش یافته است که هدف آنها دست‌یابی به بازیابی مؤثر موادغذایی می‌باشد (Salama et al., 2022). نخود (*Cicer arietinum* L.) گیاهی است علفی یکساله، روز بلند و از مهمترین حبوبات دنیاست که در مناطق نیمه‌خشک به‌طور وسیعی کشت می‌شود (Banik et al., 2006). اسفناج (*Spinacia oleracea* L.) نیز گیاهی است یکساله، روز بلند و محصول نواحی سرد که در آب و هوای خنک بهتر رشد و نمو می‌کند. اسفناج از سبزیجات مهمی است که برگ‌ها و شاخه‌های تازه یا فرآوری شده آن مصرف می‌شود. اسفناج بومی آسیای مرکزی و احتمالا بومی ایران است. اسفناج یک سبزی برگ غنی از مواد مغذی است. این گیاه شامل فلاونوئیدهای مختلف است که به عنوان آنتی اکسیدان و عوامل ضدسرطانی عمل می‌کنند. همچنین، اسفناج در پیشگیری از بیماری آلزایمر استفاده می‌شود. در استان همدان و شهرستان تویسرکان، اسفناج عمدتا جهت تولید بذر کشت می‌شود. عملکرد این گیاه بین ۱۵۰۰ تا ۲۰۰۰ کیلوگرم در هکتار متغیر است. در زمینه کشت مخلوط اسفناج با سایر گیاهان زراعی آزمایشاتی صورت گرفته و گزارش شده است که در حالت کشت مخلوط، هر دو گونه از منابع محیطی با راندمان بیشتری استفاده کرده و نسبت برابری زمین بزرگتر از یک داشتند. از جمله، تأثیر نخودفرنگی بر عملکرد و شاخص‌های رقابت در سری های کشت مخلوط جایگزینی و افزایشی با اسفناج بررسی و مشخص گردید که کشت مخلوط اسفناج با نخود فرنگی سودمند بوده و در هیچ کدام از تیمارهای کشت مخلوط کاهش عملکرد واقعی مشاهده نشد. در این مطالعه، نسبت برابری زمین در الگوهای مختلف کشت مخلوط بیشتر از یک بوده و همچنین، نسبت برابری زمین و شاخص بهره وری سیستم در کشت مخلوط سری افزایشی بیشتر از کشت مخلوط سری جایگزینی گزارش شده است (Salehi Sheikhi et al., 2020). در کل، هرچند پژوهش‌های متعددی در مورد جنبه‌های مختلف کشت مخلوط در ایران صورت گرفته است، ولی مقایسه اثر دو روش جایگزینی و همجواری بر تولید محصول و برخی شاخص‌های کشت مخلوط اسفناج با نخود در منطقه همدان ناشناخته باقی‌مانده است. بنابراین، این آزمایش با هدف بررسی امکان کشت مخلوط اسفناج با نخود با استفاده از شاخص‌های زراعی و اقتصادی و نیز در صورت امکان تعیین بهترین الگوی کاشت، طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال زراعی ۹۶-۱۳۹۵ در شهرستان تویسرکان از توابع استان همدان، به منظور بررسی امکان کشت مخلوط اسفناج (برای تولید دانه) با نخود با استفاده از شاخص‌های زراعی و نیز شاخص‌های اقتصادی و سودمندی کشت مخلوط اجرا گردید. مقدار بارش ماهانه و دمای منطقه در طول دوره رشد در جدول ۱ آورده شده است. قبل از اجرای طرح به منظور بررسی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش، تعداد ده نمونه به صورت تصادفی از عمق ۳۰-۰ سانتی‌متری تهیه و مخلوط شدند. نمونه خاک در آزمایشگاه مورد تجزیه قرار گرفت که برخی از مشخصات آن در جدول ۲ ارائه شده است.

آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. کشت مخلوط جایگزینی اسفناج- نخود با نسبت ۶۰:۴۰ (اسفناج: نخود)، کشت مخلوط افزایشی ۲۰ درصد نخود با اسفناج (۱۰۰:۲۰)، کشت خالص اسفناج و کشت خالص نخود تیمارهای آزمایشی بودند. عملیات خاک‌ورزی اولیه (شخم) در پائیز و عملیات خاک‌ورزی ثانویه شامل دوبار دیسک عمود برهم و تسطیح زمین با استفاده از لولر در اسفندماه سال ۱۳۹۵ انجام شد.

جدول ۱- ویژگی‌های آب و هوایی محل اجرای آزمایش در سال زراعی ۹۶-۱۳۹۵

Table 1- Meteorological characteristics of the experimental site in 2016-2017

ماه Month	اسفند ۹۵ March2016	فروردین ۹۶ April 2016	اردیبهشت ۹۶ May 2016	خرداد ۹۶ Jun 2016	تیر ۹۶ July 2016	مرداد ۹۶ Augus 2016
Rainfall (mm) / بارندگی	84.5	142.3	23.5	_	_	_
Average temperature (°c) / میانگین دما	6.1	9	13.2	17.3	21.1	22.8
T_{max} (°c) بیشینه دما	9.9	14.1	20.2	25.5	31.1	33.5
T_{min} (°c) کمینه دما	2.3	3.9	6.8	9.1	11.0	12.0
Sunny hours ساعات آفتابی	8.0	9.3	12.0	13.4	14.0	14.5

جدول ۲- نتایج تجزیه فیزیکی و شیمیایی خاک محل اجرای آزمایش

Table 2- Soil physico-chemical characteristics of the experimental site

بافت خاک Soil texture	پتاسیم قابل جذب Available K (ppm)	فسفر قابل جذب Available P (ppm)	کربن آلی Organic C (%)	نیتروژن کل Total N (%)	اسیدیته pH	هدایت الکتریکی EC ($dS\ m^{-1}$)
Clay silty	247	12.20	0.2	0.13	6.80	4.10

جهت تأمین عناصر غذایی گیاهان و طبق توصیه کودی، ۲۰ تن در هکتار کود دامی قبل از انجام شخم به زمین اضافه و با خاک مخلوط شد. عملیات کاشت اسفناج و نخود به‌صورت همزمان در ۲۸ اسفند ماه سال ۱۳۹۵ در کرت‌هایی به طول شش متر و با عرض دو و نیم متر انجام گرفت. بذر مورد استفاده برای اسفناج از بذور توده محلی تویسرکان و بذر نخود (رقم هاشم) از مؤسسه تحقیقات دیم سرارود کرمانشاه تهیه شد. فواصل بین ردیف‌های کاشت اسفناج ۵۰ سانتی‌متر، فاصله بوته بر روی ردیف ۱۰ سانتی‌متر و برای نخود فواصل بین ردیف‌های کاشت ۲۵ سانتی‌متر و فاصله بوته بر روی ردیف ۱۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. تراکم نهایی در کشت خالص اسفناج ۲۰ بوته در مترمربع و در کشت خالص نخود ۴۰ بوته در مترمربع بود. در کشت خالص اسفناج و نخود به‌ترتیب پنج و ده خط کاشت در هر کرت وجود داشت. در کرت‌های کشت مخلوط جایگزینی (۶۰ درصد اسفناج + ۴۰ درصد نخود) نیز سه ردیف اسفناج و چهار ردیف نخود کشت شد. در کشت مخلوط افزایشی، ۲۰ درصد تراکم کشت خالص نخود (هشت بوته در مترمربع) در بین ردیف‌های اسفناج کشت شد. بنابراین، در اجرای کشت مخلوط از دو روش جایگزینی و همجواری (افزایشی) استفاده شد (شکل ۱). همچنین، در هر بلوک فاصله کرت‌ها از هم یک متر و فاصلهٔ بین دو بلوک دو متر درنظر گرفته شد. بذور نخود قبل از کاشت با باکتری ریزوبیوم لگومینوزاروم که از شرکت فناوری زیستی مهر آسیا تهیه شده بود تلقیح گردید. کشت به صورت کپه ای انجام گرفت و به‌منظور دسترسی به تراکم مطلوب مورد نظر، دو تا سه هفته پس از سبز شدن بوته‌های اضافی تنک شدند. زمانی که رنگ غلاف‌های نخود زرد و رنگ بوته‌های اسفناج (با هدف برداشت دانه) کاملا زرد شده بود برداشت انجام شد. به عبارتی، برداشت اسفناج و نخود به‌ترتیب در ۱۰ و ۲۰ تیرماه ۱۳۹۶ صورت گرفت. برای تعیین عملکرد بیولوژیک، عملکرد دانه و اجزای عملکرد، نمونه‌برداری در مرحله رسیدگی بوته‌ها انجام شد. نحوهٔ نمونه‌برداری بدین صورت بود که از ردیف‌های میانی کرت‌ها بعد از حذف حاشیه‌ها، نمونه‌ای به مساحت دو مترمربع برداشت شد و پس از خشک شدن در هوای آزاد توزین و عملکرد بیولوژیک ثبت گردید. سپس دانه‌ها از کاه و کلش جدا و جهت ثبت عملکرد دانه توزین شدند. صفات ارتفاع بوته (فاصله از سطح خاک تا بالاترین ارتفاع)، تعداد شاخه در بوته، تعداد دانه در بوته، وزن هزاردانه، عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیک در اسفناج و در نخود نیز صفات تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در غلاف، وزن هزار دانه، عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیک اندازه‌گیری شدند. جهت ارزیابی سودمندی کشت مخلوط اسفناج با نخود در مقایسه با کشت خالص به‌ترتیب از روابط یک تا ۱۲ برای محاسبه شاخص نسبت برابری زمین[۱] (Lithourgidis *et al.*, 2011)، نسبت برابری ماده خشک[۲] (Salama *et al.*, 2022)، شاخص بهره‌وری سیستم[۳] (Banik *et al.*, 2006)، نسبت رقابتی[۴] (Dhima *et al.*, 2007)، شاخص غالبیت[۵] (Bedoussac and Justes, 2011)، شاخص کاهش عملکرد واقعی[۶] (Banik *et al.*, 2006)، شاخص مجموع ارزش نسبی[۷] (Vrignon-Brenas *et al.*, 2016)، شاخص سودمندی مالی[۸] و شاخص سودمندی کشت مخلوط[۹] (Banik *et al.*, 2006) استفاده شد.

1- Land equivalent ratio
2- Dry matter equivalent ratio
3- System productivity index
4- Competitive ratio
5- Aggressivity
6- Actual yield loss
7- Relative value Total
8- Monetary advantage index
9- Intercropping advantage

رابطه (۱) نسبت برابری زمین $LER = (Yab/Yaa)+(Yba/Ybb)$

رابطه (۲) نسبت برابری ماده خشک $DMER = (DMab+DMba)/DMaa$

رابطه (۳) شاخص بهره‌وری سیستم $SPI = (Yaa/Ybb)\times(Yba+Yab)$

رابطه (۴) نسبت رقابتی اسفناج $CRa = (LERa/LERb)\times(Zba/Zab)$

رابطه (۵) نسبت رقابتی نخود $CRb = (LERb/LERa)\times(Zab/Zba)$

رابطه (۶) شاخص غالبیت $AGa = 2*(LERa-LERb) = - AGb$

رابطه (۷) کاهش عملکرد واقعی اسفناج $ALYa = [(Yab/Zab)/(Yaa/Zaa)]-1$

رابطه (۸) کاهش عملکرد واقعی نخود $ALYb = [(Yba/Zba)/(Ybb/Zbb)]-1$

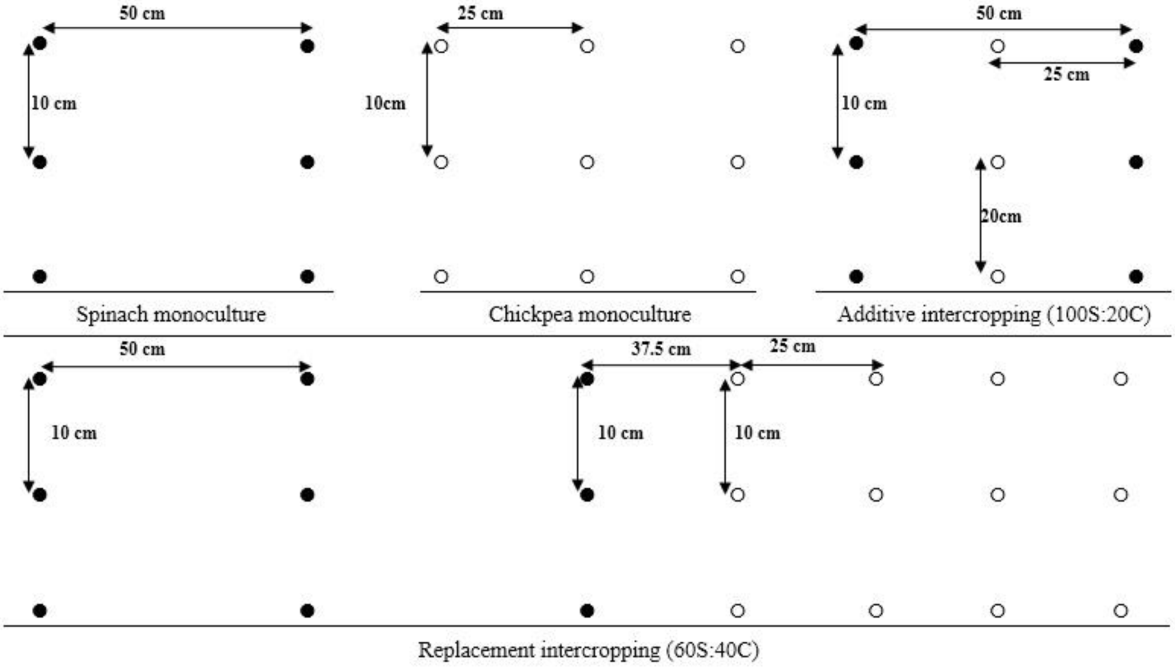
رابطه (۹) مجموع ارزش نسبی $RVT = (Pa\times Yab+Pb\times Yba)/Pa\times M$

رابطه (۱۰) شاخص سودمندی مالی $AI = [(Pa\times Yab+Pb\times Yba)]\times[(LER-1)/LER]$

رابطه (۱۱) سودمندی کشت مخلوط اسفناج $IAa = ALYa\times Pa$

رابطه (۱۲) سودمندی کشت مخلوط نخود $IAb = ALYb\times Pb$

در این معادلات Yab و Yba: به‌ترتیب عملکرد گیاه a (اسفناج) و b (نخود) در کشت مخلوط، Yaa و Ybb: به‌ترتیب عملکرد گیاه a (اسفناج) و b (نخود) در کشت خالص، DMab، DMba و DMaa: به‌ترتیب ماده خشک اسفناج (وزن خشک کل) در کشت مخلوط، ماده خشک نخود در کشت مخلوط و ماده خشک اسفناج در کشت خالص، Zab و Zba: به‌ترتیب نسبت گونه a و b در کشت مخلوط، Zaa و Zbb: به‌ترتیب نسبت گونه a و b در کشت خالص، Pa و Pb: به‌ترتیب قیمت محصول اسفناج و نخود و M حداکثر عملکرد اسفناج در کشت خالص است. قیمت هر کیلوگرم بذر اسفناج و نخود به‌ترتیب ۳۵ و ۴۰ هزار تومان در نظر گرفته شد. تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SAS9.1 و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد صورت گرفت.



شکل ۱- دیاگرام نحوه اجرای کشت مخلوط اسفناج و نخود

Figure 1- Diagram for spinach and chickpea intercropping

نتایج و بحث

ارتفاع بوته و تعداد شاخه در بوته اسفناج

ارتفاع بوته اسفناج به طور معنی‌داری تحت تأثیر الگوهای مختلف کشت قرار گرفت (جدول ۳). همانگونه که در جدول مقایسه میانگین‌ها (جدول ۴) مشاهده می‌شود، بیشترین ارتفاع بوته اسفناج (۴۵/۳۰ سانتی‌متر) مربوط به تیمار T_1 (کشت مخلوط جایگزینی اسفناج:نخود) و کمترین ارتفاع بوته اسفناج (۳۶/۰۰ سانتی‌متر) نیز به تیمار T_3 (کشت خالص اسفناج) تعلق گرفت. بین تیمارهای کشت مخلوط افزایشی و کشت خالص اسفناج از نظر ارتفاع بوته اسفناج تفاوت معنی‌دار وجود نداشت. در تیمارهای مخلوط به نظر می‌رسد حضور بوته‌های نخود و تثبیت نیتروژن توسط نخود باعث افزایش ارتفاع بوته اسفناج شده است. به عبارتی، احتمال می‌رود که تراکم بالای نخود در واحد سطح در کشت مخلوط جایگزینی (کشت مخلوط ۴۰ درصد نخود با ۶۰ درصد اسفناج) نسبت به کشت مخلوط افزایشی (کشت مخلوط ۲۰ درصد نخود با ۱۰۰ درصد اسفناج) منجر به فراهمی بیشتر نیتروژن برای گیاه همجوار (اسفناج) شده و این امر نیز به افزایش بیشتر ارتفاع بوته اسفناج منجر گردیده است. در بررسی کشت مخلوط ذرت با لوبیا بیان شد که افزایش ارتفاع بوته ذرت در کشت مخلوط، به‌علت تثبیت نیتروژن توسط لوبیا بوده است (Hakan *et al.*, 2008). در کشت مخلوط اسفرزه با زنیان نیز بیشترین ارتفاع بوته زنیان (۵۱/۳ سانتی‌متر) مربوط به کشت مخلوط افزایشی اسفرزه با زنیان و کمترین ارتفاع بوته (۴۵ سانتی‌متر) مربوط به کشت خالص زنیان بوده است (Mosapour *et al.*, 2015).

اثر تیمار بر تعداد شاخه در بوته اسفناج در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شد (جدول ۳). در مورد این صفت نتیجه متفاوت از ارتفاع بوته بود، به طوری که بیشترین (۱۱/۴۶) و کمترین (۷/۸۰) تعداد شاخه در بوته به‌ترتیب به تیمار T_2 (کشت مخلوط افزایشی ۲۰ درصد نخود با اسفناج) و تیمار T_1 (کشت مخلوط جایگزینی اسفناج:نخود) تعلق داشت. در مورد این صفت نیز بین تیمارهای کشت مخلوط افزایشی و کشت خالص اسفناج تفاوت معنی‌دار وجود نداشت (جدول ۴). احتمالا در کشت مخلوط افزایشی، گیاهان از توزیع مکانی و فضایی مناسبی برخوردار بوده و از عوامل محیطی از قبیل نور، آب و عناصر غذایی به خوبی استفاده کرده‌اند که باعث افزایش تعداد شاخه در بوته شده است. در واقع، به نظر می‌رسد در کشت مخلوط جایگزینی به علت افزایش ارتفاع بوته اسفناج، انرژی کمتری صرف تولید شاخه‌های جانبی شده است. در کشت مخلوط گشنیز با شنبلیله، بیشترین تعداد شاخه در بوته را از کشت مخلوط و کمترین تعداد شاخه در بوته را از کشت خالص شنبلیله گزارش کردند (Bigonah *et al.*, 2015). در کشت مخلوط نخود با زعفران نیز بیشترین تعداد شاخه در بوته نخود از کشت مخلوط افزایشی ۲۰ درصد نخود با زعفران به‌دست آمد (Asadi *et al.*, 2016).همچنین در کشت مخلوط رازیانه با شنبلیله، بیشترین تعداد شاخه در بوته رازیانه از کشت مخلوط و کمترین آن در کشت خالص گزارش شده است (Sadri *et al.*, 2015).

تعداد دانه در بوته و وزن هزار دانه اسفناج

تعداد دانه در بوته اسفناج تحت تأثیر کشت مخلوط قرار نگرفت. ولی، اثر الگوی کشت بر وزن هزار دانه اسفناج در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۳). با توجه به جدول مقایسه میانگین‌ها (جدول ۴)، بیشترین وزن هزار دانه (۷۵/۵۶ گرم) به کشت مخلوط افزایشی نخود با اسفناج و کمترین وزن هزار دانه (۴۳/۴۰ گرم) با ۴۳ درصد کاهش نسبت به تیمار کشت مخلوط افزایشی، مربوط به تیمار T_3 (کشت خالص اسفناج) بود.

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر تیمارهای آزمایشی بر صفات زراعی، اجزای عملکرد، عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیک اسفناج

Table 3- ANOVA for the effect of experimental treatments on agronomic triats, yield components, seed yield and biological yield of spinach

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	ارتفاع بوته Plant height	تعداد شاخه در بوته Number of branches/plant	تعداد دانه در بوته Number of seeds/plant	وزن هزار دانه 1000-seed weight	عملکرد دانه Seed yield	عملکرد بیولوژیک Biological yield
بلوک Block	2	331.44**	13.14*	231.28ns	115.44 ns	5305 *	42255*
تیمار Treatment	2	70.77*	10.57*	812.44ns	843.11**	8280 *	46242 **
خطا Error	4	11.10	1.20	734.94	56.61	835	3629
ضریب تغییرات CV (%)	-	8.35	11.08	15.92	13.25	11.32	10.32

ns، * و **: به ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

ns, * and ** : non significant, significant at $p\leq0.05$ and $p\leq0.01$, respectively.

جدول ٤- اثر تیمارهای آزمایشی بر صفات زراعی، اجزای عملکرد، عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیک اسفناج

Table 4- The effect of experimental treatments on agronomic triats, yield components, seed yield and biological yield of spinach

تیمار Treatment	ارتفاع بوته Plant Height (cm)	تعداد شاخه در بوته Number of branches.plant^{-1}	وزن هزار دانه 1000-seed weight (g)	عملکرد دانه Seed yield (g.m^{-2})	عملکرد بیولوژیک Biological yield (g.m^{-2})
T_1	45.30 ^{a}	7.80 ^{b}	51.00 ^{b}	195.67 ^{b}	445.45 ^{b}
T_2	38.25 ^{b}	11.46 ^{a}	75.56 ^{a}	295.00 ^{a}	623.30 ^{a}
T_3	36.00 ^{b}	10.33 ^{a}	43.67 ^{b}	275.00 ^{a}	683.25 ^{a}

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

Means in each column follow by similar letter(s) are not significantly different at 5% of probability level, using LSD test.

T1: کشت مخلوط جایگزینی نخود:اسفناج با نسبت ۶۰:۴۰ : T_2: کشت مخلوط افزایشی ۲۰ درصد نخود با اسفناج و T_3: کشت خالص اسفناج

T_1 : Replacement intercropping of spinach:chickpea (60S:40C), T_2: additive intercropping of 20% chickpea with spinach,and T_3: spinach monocuiture

هرچند تیمار کشت خالص اسفناج با کشت مخلوط جایگزینی از نظر وزن هزار دانه اسفناج تفاوت معنی‌دار نداشت، ولی وزن هزار دانه اسفناج در کشت مخلوط افزایشی ۱۴/۳۷ درصد بیشتر از وزن هزار دانه اسفناج در کشت خالص بود. به‌نظر می‌رسد افزایش وزن هزار دانه در تیمار T_2 به دلیل تأثیر مثبت کشت مخلوط از نظر تثبیت نیتروژن توسط نخود و فراهمی مطلوب این عنصر غذایی برای گیاه اسفناج و نیز حفظ رطوبت و تعدیل میکروکلیما به‌دلیل پوشش گیاهی مناسب باشد. از طرفی همانطور که در بخش ارتفاع بوته بیان شد، به‌نظر می‌رسد فراهمی زیاد نیتروژن در کشت مخلوط جایگزینی منجر به رشد رویشی زیاد شده و به همین دلیل وزن دانه‌ها در کشت مخلوط افزایشی بیشتر از کشت مخلوط جایگزینی شده است. گزارش شده است که فراهمی عنصر نیتروژن در سطح مطلوب از طریق افزایش تولید مواد فتوسنتزی و انتقال بیشتر فتوآسمیلات‌ها به سمت مخازن به افزایش وزن هزار دانه منجر می‌شود. به عبارتی، وزن هزار دانه به میزان فتوسنتز و انتقال مواد فتوسنتزی به دانه‌ها در زمان پر شدن بستگی دارد (Vrignon-Brenas *et al.*, 2016). در بررسی تأثیر کشت مخلوط بر عملکرد و اجزای عملکرد باقلا و نخود در ترکیب با غلات، بیشترین وزن هزار دانه نخود در تیمارهای کشت مخلوط نخود با تریتیکاله و نخود با جو و کمترین آن در تیمار کشت خالص نخود مشاهده شده است (Soleimanpur *et al.*, 2017). در کشت مخلوط آفتابگردان با لوبیا قرمز نیز بیشترین وزن هزار دانه آفتابگردان از کشت مخلوط و کم‌ترین وزن هزار دانه از کشت خالص آن به‌دست آمد (Koocheki *et al.*, 2017).

عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیک اسفناج

بر اساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها، عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیک اسفناج به‌ترتیب در سطح احتمال پنج و یک درصد تحت تأثیر الگوهای مختلف کشت قرار گرفتند (جدول ۳). بیشترین عملکرد دانه (۲۹۵ گرم بر متر مربع) و عملکرد بیولوژیک (۶۸۳/۲۵ گرم بر متر مربع) اسفناج به‌ترتیب به کشت مخلوط افزایشی ۲۰ درصد نخود با اسفناج و کشت خالص اسفناج اختصاص یافت. ولی، بین تیمار کشت مخلوط افزایشی و کشت خالص از نظر عملکردهای دانه و بیولوژیک اسفناج تفاوتی وجود نداشت. کمترین عملکرد دانه (۱۹۵/۶۷ گرم بر مترمربع) و عملکرد بیولوژیک (۴۴۵/۴۵ گرم بر متر مربع) اسفناج نیز به کشت مخلوط جایگزینی اسفناج با نخود تعلق گرفت (جدول ۴). با توجه به کاهش تراکم در واحد سطح اسفناج در کشت مخلوط جایگزینی، این امر دور از انتظار نیست. هنگامی‌که دو گونه با ارتفاع بوته، پوشش گیاهی و الگوی رشد متفاوت به صورت همزمان در کشت مخلوط قرار گیرند، کمترین رقابت را با یکدیگر دارند که این موضوع باعث افزایش عملکرد دانه و بیولوژیک در کشت مخلوط در مقایسه با تک‌کشتی می‌شود (Borghi *et al.*, 2013). همچنین، عملکرد دانه باقلا در کشت مخلوط با ذرت، ۳۰ درصد نسبت به تک‌کشتی افزایش یافت (Koocheki *et al.*, 2017). در کشت مخلوط ذرت با خلر نیز بیشترین عملکرد بیولوژیک ذرت از نسبت ۷۵ درصد ذرت با ۲۵ درصد خلر گزارش شد (Sadri *et al.*, 2015).

ارتفاع بوته و تعداد شاخه در بوته نخود

اثر الگوهای مختلف کشت بر ارتفاع بوته و تعداد شاخه در بوته نخود در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۵). بیشترین ارتفاع بوته (۳۹/۴۳ سانتی‌متر) و تعداد شاخه در بوته نخود (۱۳/۴۶ شاخه در بوته) به‌ترتیب به کشت مخلوط افزایشی ۲۰ درصد نخود با اسفناج (T_2) و کشت خالص نخود (T_3) تعلق گرفت (جدول ۶). ولی، بین کشت مخلوط جایگزینی و کشت خالص نخود از نظر ارتفاع بوته و تعداد شاخه در بوته نخود تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. با این وجود، ارتفاع بوته نخود در کشت مخلوط جایگزینی بیشتر از کشت خالص نخود بود که احتمالا این موضوع منجر به کاهش تعداد شاخه در بوته نخود در کشت مخلوط جایگزینی نسبت به کشت خالص نخود شده است. احتمال می‌رود که افزایش ارتفاع بوته نخود در کشت مخلوط افزایشی، مربوط به رقابت نوری باشد. زیرا رقابت بر سر نور باعث می‌شود تا گیاهان سرمایه‌گذاری بیشتری برای ارتفاع بوته داشته

باشند که این امر به کاهش تعداد شاخه در بوته منجر مـی‌شـود. در شرایط سایه با کاهش نسبت نور قرمز به قرمز دور (R/FR) و کاهش میزان تشعشعات فعال فتوسنتزی (PAR) افزایش ارتفاع گیاهان قابل انتظار است (Yang *et al*., 2014). در کشت مخلوط گندم بـا نخـود (Javanmard *et al*., 2016) و در کشـت مخلـوط جـو بـا نخـود (Hamzei and Seyedi, 2013) نیز کمترین ارتفاع بوته و بیشـترین تعداد شاخه در بوته نخود از کشت خالص آن و بیشترین ارتفاع بوتـه و کمترین تعداد شاخه در بوته از کشت مخلوط گزارش شده است.

جدول ۵- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر تیمارهای آزمایشی بر صفات زراعی، اجزای عملکرد، عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیک نخود

Table 5– ANOVA (mean squares) for the effect of experimental treatments on agronomic triats, yield components, grain and biological yields of chickpea

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	ارتفاع بوته Plant height	تعداد شاخه در بوته N. of branches/plant	تعداد غلاف در بوته N. of pods/plant	تعداد دانه در غلاف N. of grains/pod	وزن هزار دانه 1000-grain weight	عملکرد دانه Grain yield	عملکرد بیولوژیک Biological yield
بلوک Block	2	18.95 ^{ns}	21.43 *	23.77^{ns}	0.06^{ns}	1586 *	3470 *	11001*
تیمار Treatment	2	267.71**	44.57*	41.44*	0.04^{ns}	1769*	39573**	157528**
خطا Error	4	16.68	2.85	5.78	0.04	211	380	1388
ضریب تغییرات C.V. (%)	-	14.22	17.12	10.08	16.41	15.5	12.85	11.13

ns، * و **: به ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد و یک درصد

ns, * and ** : non significant, significant at $p\leq0.05$ and $p\leq0.01$, respectively.

جدول ٦- اثر تیمارهای آزمایشی بر اجزای عملکرد، عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیک نخود

Table 6- The effect of experimental treatments on yield components, grain yield and biological yield of chickpea

تیمار Treatment	ارتفاع بوته Plant height (cm)	تعداد شاخه در بوته N. of branches.plant^{-1}	تعداد غلاف در بوته N. of pod.plant^{-1}	وزن هزار دانه 1000-grain weight (g)	عملکرد دانه Grain yield (g.m^{-2})	عملکرد بیولوژیک Biological yield (g.m^{-2})
T_1	25.12 ^{b}	10.23 ^{a}	25.33 ^{a}	285 ^{ab}	117 ^{b}	279 ^{b}
T_2	39.43 ^{a}	5.80 ^{b}	19.67 ^{b}	305 ^{a}	58 ^{c}	139 ^{c}
T_3	21.59 ^{b}	13.46 ^{a}	26.66 ^{a}	257 ^{b}	280 ^{a}	587 ^{a}

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

Means in each column follow by similar letter(s) are not significantly different at 5% of probability level, using LSD test.

T1: کشت مخلوط جایگزینی نخود:اسفناج با نسبت ۶۰:۴۰ : T2 کشت مخلوط افزایشی ۲۰ درصد نخود با اسفناج و T3: کشت خالص نخود

T_1: Replacement intercropping of spinach:chickpea (60S:40C), T_2: additive intercropping of 20% chickpea with spinach, and T_3: chickpea monocuiture

تعداد غلاف در بوته و وزن هزار دانه نخود

تعداد غلاف در بوته نخود در سـطح احتمـال یـک درصـد و وزن هزار دانه نخود در سطح احتمال پـنج درصـد تحـت تـأثیر تیمارهـای آزمایش قرار گرفتند (جدول ۵). همـان‌طـور کـه در جـدول مقایسـه میانگین‌ها (جدول ۶) مشاهده می‌شود، بیشـترین (۳۶/۴۰) و کمتـرین (۱۹/۳۸) تعداد غلاف در بوته نخود به‌ترتیب در کشت خالص نخـود و کشت مخلوط افزایشی ۲۰ درصد نخود با اسفناج مشـاهده شـد. بـین کشت‌های خالص و مخلوط جایگزینی از نظر تعـداد غـلاف در بوتـه نخود تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. بیشترین وزن هـزار دانـه نخـود (۳۰۵ گرم) مربوط به کشت مخلوط افزایشی ۲۰ درصد نخود با اسفناج بود (جدول ۶). کمترین وزن هزار دانه نخود (۲۵۷ گرم) نیز بـا حـدود ۱۶ درصد کاهش نسبت به تیمار کشت مخلوط افزایشـی، مربـوط بـه کشت خالص نخود بود. قابل ذکر است که بین کشت‌های مخلـوط از نظر وزن هزار دانه نخود تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. وزن دانـه بـا تعداد دانه در بوته همبستگی منفـی دارد. بنـابراین، بـه‌نظـر مـی‌رسـد به‌علت کاهش تعداد دانه در بوته نخود در نتیجه کاهش تعداد غـلاف در بوته در کشت مخلوط افزایشی، مواد فتوسنتزی بین مخازن کمتری توزیع شده و این امر به افزایش وزن دانه منجر شده است. در سویا نیز دلیل کاهش تعداد غلاف در بوته در کشت مخلوط بـا ذرت، کـاهش تعداد گل‌های بارور و رقابت بین‌گونه‌ای گزارش شده اسـت (Seyedi and Hamzei, 2017).

عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیک نخود

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیک نخود در سطح احتمال یک درصد تحت تأثیر الگوهای مختلف کشت قرار گرفتند (جدول ۵). بیشترین عملکرد دانه نخود (۲۸۰ گرم در مترمربع) و عملکرد بیولوژیک (۵۸۷ گرم در متر مربع) به تیمار کشت خالص و کمترین عملکرد دانه (۵۸ گرم در متر مربع) و عملکرد بیولوژیک (۱۳۹ گرم در متر مربع) به کشت مخلوط افزایشی ۲۰ درصد نخود با اسفناج تعلق گرفت (جدول ۶). علت اصلی کاهش عملکرد نخود در الگوهای کشت مخلوط نسبت به کشت خالص، کاهش تعداد بوته نخود در واحد سطح است. همچنین، رقابت بین‌گونه‌ای برای کسب منابع محیطی مورد نیاز در رشد به‌ویژه در کشت مخلوط افزایشی، می‌تواند دلیل کاهش عملکرد گیاه همراه (نخود) در کشت مخلوط باشد. رقابت بین گونه‌ای دلیلی بر افزایش رشد رویشی و کاهش اجزای عملکرد ذکر شده است. به‌طوری که، این امر انرژی کسب شده توسط گونه را به سمتی سوق می‌دهد که بتواند اثرات رقابتی را کاهش و یا حذف کند و در نتیجه انرژی کمتری به تولید عملکرد اقتصادی اختصاص می‌دهد (Chapagain and Riseman, 2014). کاهش عملکرد دانه و بیولوژیک نخود در کشت‌های مخلوط نسبت به کشت خالص گزارش شده است (Seyedi and Hamzei, 2017). همچنین، در آزمایشی سرعت رشد کم و قدرت سایه‌اندازی اندک نخود در ابتدای فصل رشد و قدرت رقابتی بالای گندم دلیل کاهش عملکرد دانه و بیولوژیک نخود در کشت مخلوط گزارش شده است (Javanmard *et al.*, 2016).

شاخص نسبت برابری زمین (LER) و شاخص بهره‌وری سیستم (SPI)

یکی از شاخص‌هایی که در بسیاری از ترکیبات کشت مخلوط به منظور تعیین سودمندی استفاده می‌شود، نسبت برابری زمین است. در واقع، نسبت برابری زمین نشان دهنده کارایی کشت مخلوط در جهت استفاده از منابع در مقایسه با کشت خالص است (Lithourgidis *et al.*, 2011). در این آزمایش کشت‌های مخلوط نسبت برابری زمین بیشتر از یک داشتند (۱/۲۸ و ۱/۱۳ به ترتیب در کشت مخلوط افزایشی و کشت مخلوط جایگزینی) (جدول ۷) که این امر نشان‌دهنده برتری کشت مخلوط بر کشت خالص می‌باشد. این یافته‌ها بیانگر این است که برای به‌دست آوردن عملکرد ی معادل الگوهای کشت مخلوط، در سیستم تک‌کشتی به‌ترتیب ۲۸ و ۱۳ درصد زمین بیشتر مورد نیاز است. اضافه عملکرد به‌دست آمده را می‌توان به استفاده بهتر از منابع موجود توسط دو گیاه و اختلافات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی بین آنها نسبت داد. در بررسی کشت مخلوط نخود با جو بیان شد که بهره‌وری استفاده از زمین در کشت مخلوط نسبت به تک‌کشتی بیشتر است و محاسبه LER نیز نشان داد کشت مخلوط ۳۲ درصد بهره‌وری بیشتری نسبت به تک‌کشتی دارد (Chapagain and Riseman, 2014). در کشت مخلوط ذرت شیرین با ماش نیز نسبت برابری زمین بیشتر از یک گزارش شده است (Gholinejad *et al.*, 2018).

بیشترین مقدار شاخص بهره‌وری سیستم نیز مربوط به کشت مخلوط افزایشی ۲۰ درصد نخود با اسفناج (۳۵۱/۹۶) بود که نشان‌دهنده برتری این الگوی کشت می‌باشد (جدول ۷). این برتری احتمالا به دلیل استفاده بهتر اجزای مخلوط از منابع رشدی مانند نور، آب و مواد غذایی در مقایسه با تک‌کشتی است.

جدول ۷- شاخص‌های سودمندی در کشت مخلوط اسفناج و نخود

Table 7- Advantage indices in spinach:chickpea intercropping

کشت مخلوط Intercropping	نسبت برابری زمین (LER)[1] اسفناج LER_S	نخود LER_C	کل LER_T	نسبت رقابتی (CR)[2] اسفناج CR_S	نخود CR_C	نخود/اسفناج CR_S/CR_C	نسبت برابری وزن خشک DMER	شاخص بهره‌وری سیستم SPI
60:40 (S:C)	0.71	0.42	1.13	1.14	0.88	1.29	1.06	310.58
100:20 (S:C)	1.07	0.21	1.28	1.04	0.97	1.07	1.10	351.96

کشت مخلوط Intercropping	کاهش عملکرد واقعی (AYL) اسفناج AYL_S	نخود AYL_C	کل AYL_T	شاخص غالبیت (AG) اسفناج AG_S	نخود AG_C	مجموع ارزش نسبی RVT	شاخص سودمندی مالی MAI	سودمندی کشت مخلوط (IA) اسفناج IA_S	نخود IA_C	کل IA_T
60:40 (S:C)	0.07	0.04	0.11	0.59	-0.59	1.20	1321	2.55	1.43	3.97
100:20 (S:C)	0.19	0.04	0.23	1.73	-1.73	1.31	2765	6.51	1.79	8.29

1- Land equivalent ratio
2- Competitive ratio

به طور کلی اگر الگوی کشت مخلوط به گونه‌ای طراحی شود که در آن عملکرد گیاه اصلی (اسفناج در این تحقیق) کاهش نیابد، هر میزان محصول یا سودی که از گیاه همراه (نخود در این تحقیق) عاید کشاورز می‌شود، سود دهی آن را توجیه خواهد کرد. سودمندی کشت مخلوط جو با نخود فرنگی با استفاده از شاخص بهره‌وری سیستم گزارش شده است (Sakhavi *et al.*, 2017).

شاخص نسبت رقابتی (CR) و نسبت برابری وزن خشک (DMER)

از ابزارهای مهم تشخیص درجه رقابت بین دو گونه گیاهی شاخص نسبت رقابتی است (Wahla *et al.*, 2019). طبق نتایج این آزمایش، نسبت رقابتی اسفناج در هر دو تیمار کشت مخلوط جایگزینی و افزایشی بزرگتر از نسبت رقابتی نخود بود که دال بر قدرت رقابتی بالاتر اسفناج نسبت به نخود دارد (جدول ۷). بنابراین، می‌توان نخود را گیاهی مناسب برای کشت مخلوط با اسفناج معرفی کرد.

علیرغم استفاده گسترده از LER در ارزیابی کارایی سیستم‌های کشت مخلوط، کفایت آن در ارزیابی کشت مخلوط افزایشی به‌طور گسترده مورد سوال قرار می‌گیرد. یک نقص عمده این است که در سری‌های افزایشی، محصول اصلی با تراکم ۱۰۰ درصد به همراه درصدی از محصول همراه کشت می‌شود که در نهایت منجر به LER بیش از یک می‌شود. به عبارتی، LER ممکن است بیش از حد واقعی سودمندی کشت مخلوط را نشان دهد. بنابراین، هر زمان که هدف به حداکثر رساندن محصول باشد، پیشنهاد می‌شود از شاخص DMER به جای LER در کشت مخلوط افزایشی استفاده شود (Salama *et al.*, 2022). ارزیابی سودمندی کشت مخلوط بر اساس شاخص نسبت برابری وزن خشک (DMER) نیز بیانگر این بود که کشت مخلوط اسفناج با نخود سودمند است. به‌طوری که مقدار عددی DMER در هر دو الگوی کشت مخلوط (۱/۰۶ و ۱/۱۰ به ترتیب برای کشت مخلوط جایگزینی و افزایشی) بزرگتر از واحد و کمتر از مقدار LER بود (جدول ۷).

شاخص کاهش عملکرد واقعی (AYL) و شاخص غالبیت (AG)

شاخص کاهش عملکرد واقعی، اطلاعات دقیق‌تری نسبت به سایر شاخص‌ها در خصوص رقابت درون گونه‌ای و بین گونه‌ای در کشت مخلوط ارایه می‌دهد (Dordas *et al.*, 2012). شاخص کاهش عملکرد واقعی اسفناج در کشت مخلوط با نخود مثبت بود (۰/۰۷ و ۰/۱۹ به‌ترتیب برای کشت مخلوط جایگزینی و افزایشی). به‌عبارتی، در کشت مخلوط جایگزینی و افزایشی عملکرد اسفناج به ترتیب ۷ و ۱۹ درصد افزایش می‌یابد. علامت مثبت این شاخص علاوه بر افزایش عملکرد نسبت به کشت خالص دال بر غالبیت اسفناج نسبت به نخود نیز می‌باشد. با این وجود، در این آزمایش شاخص کاهش عملکرد واقعی نخود مثبت و در هر دو الگوی کشت مخلوط برابر ۰/۰۴ بود. شاخص کاهش عملکرد واقعی کل نیز در کشت مخلوط افزایشی ۰/۲۳ و در کشت مخلوط جایگزینی ۰/۱۱ بود که باز سودمندی کشت مخلوط اسفناج با نخود را نشان می‌دهد. در کشت مخلوط نخود فرنگی با برخی از غلات، شاخص کاهش عملکرد واقعی کل در تمام تیمارها مثبت بوده و بر اساس این شاخص در کشت مخلوط این گیاهان دو تا ۶۳ درصد افزایش عملکرد نسبت به تک کشتی گزارش شده است (Wahla *et al.*, 2019).

شاخص غالبیت نشان دهنده این است که افزایش عملکرد نسبی یک گونه در کشت مخلوط چه مقدار بزرگتر از گونه دیگر است (Wahla *et al.*, 2019). اگر AG برابر صفر شود هر دو گیاه قدرت رقابتی برابر دارند و زمانی که AG یک گیاه بزرگ‌تر از صفر شود، نشان‌دهنده غالب بودن آن گیاه بر گیاه دیگر و برعکس می‌باشد (Dordas *et al.*, 2012). شاخص غالبیت اسفناج در کشت مخلوط افزایشی با نخود (۱/۷۳) بیشتر از کشت مخلوط جایگزینی اسفناج با نخود (۰/۵۹) بود (جدول ۷). بنابراین، اسفناج گیاه غالب و نخود گیاه مغلوب می‌باشد. همین امر سبب بیشتر شدن عملکرد اسفناج نسبت به نخود می‌باشد. در کشت مخلوط گندم دوروم و نخود نیز شاخص غالبیت برای گندم مثبت و برای نخود منفی گزارش شده است (Banik *et al.*, 2006).

مجموع ارزش نسبی (RVT)، شاخص سودمندی مالی (MAI) و سودمندی کشت مخلوط (IA)

مجموع ارزش نسبی در تیمارهای کشت مخلوط بیشتر از یک بود که در این میان تیمار کشت مخلوط افزایشی نخود با اسفناج، بالاترین (۱/۳۱) مجموع ارزش نسبی را به خود اختصاص داد. با توجه به اینکه مجموع ارزش نسبی بیانگر میزان درآمد حاصل از کشت مخلوط در مقایسه با تک‌کشتی است، نتایج بیانگر این است که در تیمارهای کشت مخلوط درآمد نسبت به کشت خالص زیادتر بوده است. در کشت مخلوط زیره سبز با باقلا مجموع ارزش نسبی بیشتر از یک بوده است (Sakhavi *et al.*, 2017). در دیگر آزمایشات نیز بالاترین مجموع ارزش نسبی از کشت مخلوط افزایشی شنبلیله با رازیانه (Sadri *et al.*, 2015) و باقلا با ذرت (Hamzei and Ghamari, 2016 Rahim) به‌دست آمد.

اختلافات موجود بین سودمندی سیستم‌های کشت مخلوط از

لحاظ اقتصادی می‌تواند ناشی از اختلاف عوامل مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی، نیازهای غذایی مختلف گونه‌ها و نحوه استفاده آنها از منابع رشدی و همچنین غالبیت یک گونه نسبت به دیگری باشد (Dordas *et al.*, 2012). بررسی سودمندی اقتصادی کشت مخلوط اسفناج با نخود از طریق شاخص سودمندی مالی نشان داد که کشت مخلوط نسبت به تک کشتی به لحاظ اقتصادی سودمند است (جدول ۷). بیشترین عدد این شاخص (۲۷۶۵) مربوط به تیمار کشت مخلوط افزایشی بود و کشت مخلوط جایگزینی در رتبه بعدی قرار گرفت. در کشت مخلوط نخود فرنگی با گندم مقدار شاخص سودمندی مالی در تمامی نسبت‌ها به غیر از نسبت ۴۰:۶۰ (گندم:نخود فرنگی) مثبت گزارش شده است (Wahla *et al.*, 2019).

از طرفی، مقدار مثبت شاخص سودمندی کشت مخلوط دال بر سودمندی اقتصادی کشت مخلوط نسبت به تک کشتی است. این امر به احتمال زیاد از استفاده بهتر اجزای کشت مخلوط از منابع موجود مانند نور، آب و مواد غذایی ناشی می‌شود (Wahla *et al.*, 2019). بیشترین سودمندی کشت مخلوط اسفناج و نیز سودمندی کشت مخلوط کل مربوط به کشت مخلوط افزایشی بود و کمترین میزان این شاخص به تیمار کشت مخلوط جایگزینی اسفناج با نخود تعلق گرفت (جدول ۷). در کشت مخلوط گندم و جو با ماشک نیز سودمندی کشت مخلوط مثبت گزارش شده است (Dordas *et al.*, 2012).

نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که کشت مخلوط اسفناج با نخود می‌تواند افزایش عملکرد اسفناج را به دنبال داشته باشد. به‌طوری‌که بیشترین میزان عملکرد اسفناج در کشت مخلوط افزایشی ۲۰ درصد نخود با اسفناج مشاهده شد. هرچند این تیمار از نظر عملکرد اقتصادی با کشت خالص اسفناج تفاوتی نداشت، ولی مقادیر حاصل از شاخص‌های مختلف کشت مخلوط، مزیت کشت مخلوط اسفناج با نخود را توجیه می‌کند. به‌طوری که، بالاترین مقادیر LER، SPI، DMER، AYL، MAI و IA از کشت مخلوط افزایشی حاصل شد. بنابراین می‌توان این الگوی کشت را جهت بهره‌مندی از سود بیشتر در زراعت اسفناج به کشاورزان توصیه کرد.

منابع

1. Asadi, G.H., KHorramdel, S., & Hatfifarajian, M.H. (2016). The effects of row intercropping ratios of chickpea and saffron on their quantitative characteristics and yield. *Journal of Saffron Agronomy and Technology*, *4*, 93-103. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22048/jsat.2016.17360
2. Banik, P., Midya, A., Sarkar, B.K., & Ghose, S.S. (2006). Wheat and chickpea intercropping systems in an additive series experiment: Advantages and weed smothering. *European Journal of Agronomy*, *24*, 325-332. https://doi.org/10.1016/j.eja.2005.10.010
3. Barker, S., & Dennet, M.D. (2013). Effect of density, cultivar and irrigation on sprihng sown monocrops and intercrop if wheat (*Triticum aestivum* L.) and faba bean (*Vicia faba* L.). *European Journal of Agronomy*, *51*, 108-116. https://doi.org/10.1016/j.eja.2013.08.001
4. Bedoussac, L., & Justes, E. (2011). A comparison of commonly used indices for evaluating species interactions and intercrop efficiency: Application to durum wheat–winter pea intercrops. *Field Crops Research*, *124*, 25–36. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2011.05.025
5. Bigonah, R., Rezvani Moghaddam, P., & Jahan, M. (2015). Effects of intercropping on biological yield, percentage of nitrogen and morphological characteristics of coriander and fenugreek. *Iranian Journal of Field Crops Research*, *12*, 574-581. (In Persian with English abstract)
6. Borghi, E., Crusciol, C.A.C., Nascente, A.S., Sousa, V.V., Martins, P.O., Mateus, G.P., & Costa, C. (2013). Sorghum grain yield, forage biomass production and revenue as affected by intercropping time. *European Journal of Agronomy*, *51*, 130-139. https://doi.org/10.1016/j.eja.2013.08.006
7. Chapagain, T., & Riseman, A. (2014). Barley–pea intercropping: Effects on land productivity, carbon and nitrogen transformations. *Field Crops Research*, *166*, 18–25. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2014.06.014
8. Dhima, K.V., Lithourgidis, A.A., Vasilakoglou, I.B., & Dordas, C.A. (2007). Competition indices of common vetch and cereal intercrops in two seeding ratio. *Field Crops Research*, *100*, 249-256. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2006.07.008
9. Dordas, C.A., Vlachostergios, D.N., & Lithourgidis, A.S. (2012). Growth dynamics and agronomic-economic benefits of pea–oat and pea–barley intercrops. *Crop and Pasture Science*, *63*, 45-52. https://doi.org/10.1071/CP11181
10. Erik, S.J., Peoples, M.B., & Hauggaard-Nielsen, H. (2010). Faba bean in cropping systems. *Field Crops Research*, *115*, 203-216. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2009.10.008
11. Fatemi, R., Hoseini, S.M.B., & Motasharezadeh, B. (2021). Evaluation of light consumption efficiency in a mixture of maize and beans cultivation under the influence of biologic and organic fertilizers. *Journal of Crops Improvement*, *23*(4), 699-712. (In Persian with English abstract)

12. Gholinejad, A., Yadavi, A.R., Movahhedi Dehnavi, M., & Farajee, H. (2018). The effect of additive intercropping on yield and yield components of sweet corn (*Zea mays* L. Var. Saccharata) and mungbean (*Vigna radiate* L.) and weed biomass. *Journal of Agroecology, 10*, 120-134. (In Persian with English abstract)
13. Hakan, G., Riza, A., Hikmet, S., & Behcet, K. (2008). Intercropping of corn with cowpea and bean: Biomass yield and silage quality. *African Journal of Biotechnology, 7*, 4100-4104.
14. Hamzei, J., & Seyedi, M. (2013). Evaluation of barley (*hordeum vulgare*) and chickpea (*Cicer arietinum*) intercropping systems using advantageous indices of intercropping under weed interference conditions. *Daneshe Zeraat, 5*(9), 1-12.
15. Hamzei, J., & Ghamari Rahim, N. (2016). Economical evaluation of faba bean (*Vicia faba*) and maize (*Zea mays* L.) intercropping based on total relative value index and weeds growth reduction. *Journal of Crop Production and Processing, 6*, 97-109. (In Persian with English abstract)
16. Ibrahim, M., Ayub, M., Maqbool, M.M., Nadeem, S.M., Haq, T., Hussain, S., Ali, A., & Lauriault, L.M. 2014. Forage yield components of irrigated maize-legume mixtures at varied seed ratios. *Field Crops Research, 169*, 140-144. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2014.08.013
17. Iqbal, N., Hussain, S., Ahmed, Z., Yang, F., Wang, X., Liu, W., & Liu, J. (2019). Comparative analysis of maize–soybean strip intercropping systems: a review. *Plant Production Science, 2*, 131-142. https://doi.org/10.1080/1343943X.2018.1541137
18. Javanmard, A., Rostami, A., Nouraein, M., & Gharekhany, G.H. (2016). Agronomical, ecological and economical evaluation of wheat- chickpea intercropping under rainfed condition of Maragheh. *Journal of Agricultural Science and Sustainable Production, 26*, 19-37. (In Persian with English abstract)
19. Kimura, E., Fransen, S.C., Collins, H.P., Stanton, B.J., Himes, A., Smith, J., & Johnston, W.J. (2018). Effect of intercropping hybrid poplar and switchgrass on biomass yield, forage quality, and land use efficiency for bioenergy production. *Biomass and Bioenergy, 111*, 31-38. https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2018.01.011
20. Koocheki, A., Nasiri Mahallati, M., Borumand Rezazadeh, Z., Jahani, M., & Jafari, L. (2014). Yield responses of Black Cumin (*Nigella sativa* L.) to intercropping with chickpea (*Cicer arietinum* L.) and bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Iranian Journal of Field Crops Research, 12*, 1-8.
21. Koocheki, A., Nassiri Mahaalati, M., Mansoori, H., & Moradi, R.A. (2014). Assessing agricultural sustainability in Iran by relative advantage approach. *Journal of Agricultural Science and Sustainable Production, 23*, 179-197. (In Persian with English abstract)
22. Koocheki, A., Solouki, H., & Karbor, S. (2017). Study of ecological aspects of sesame (*Sesamum indicum* L.) and mung bean (*Vigna radiata* L.) intercropping in weed control. *Iranian Journal of Pulse Research, 7*, 27-44. (In Persian with English abstract)
23. Latati, M., Dokukin, P., Aouiche, A., Rebouh, N.Y., Takouachet, R., Hafnaoui, E., & Ounane, S.M. (2019). Species interactions improve above-ground biomass and land use efficiency in intercropped wheat and chickpea under low soil inputs. *Agronomy, 11*, 750-765. https://doi.org/10.3390/agronomy9110765
24. Lithourgidis, A.S., Vlachostergios, D.N., Dordas, C.A., & Damalas, C.A. (2011). Dry matter yield, nitrogen content, and competition in pea-cereal intercropping systems. *European Journal of Agronomy, 34*, 287-294. https://doi.org/10.1016/j.eja.2011.02.007
25. Mei, P.P., Gui, L.G., Wang, P., Hung, J., Long, H.Y., Christie, P., & Li, L. (2012). Maize/faba bean intercropping with rhizobia inoculation enhances productivity and recovery of fertilizer p in reclaimed desert soil. *Field Crops Research, 130*, 19-27. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2012.02.007
26. Mosapour, H., Ghanbari, A., Sirousmehr, A.R., & Asgharipour, M.R. (2015). Effect of sowing time on seed yield, advantage and competitive indices in ajwain (*Carum copticum* L.) and isabgol (*Plantago ovate* Forsk.) intercropping. *Iranian Journal of Crop Sciences, 17*, 139-152. (In Persian with English abstract)
27. Nawar, H.S., & Khalil, H.E. (2020). Additive intercropping of sunflower and soybean to improve yield and land use efficiency: Effect of thinning interval and nitrogen fertilization. *Chilean Journal of Agricultural Research, 2*, 142-152. http://dx.doi.org/10.4067/S0718-58392020000200142
28. Sadri, S., Pouryousef, M., & Soleimani A. (2015). Evaluation of yield, essential oil and productivity indices in fennel and fenugreek intercropping. *Journal of Crops Improvement, 16*, 921-932.
29. Sakhavi, S., Amini, R., Shakiba, M.R., & Dabbagh Mohammadi, A. (2017). Effect of bio- and chemical fertilizers on grain and essential oil yield of cumin (*Cuminum cyminum* L.) in intercropping with faba bean (*Vicia faba* L.). *Journal of Agricultural Science and Sustainable Production, 27*, 49-63.
30. Salama, H.S.A., Nawar, A.I., & Khalil, H.E. (2022). Intercropping pattern and n fertilizer schedule affect the performance of additively intercropped maize and forage cowpea in the Mediterranean region. *Agronomy, 12*, 1-17. https://doi.org/10.3390/agronomy12010107
31. Salehi Sheikhi, M., Nakhzari Moghaddam, A., Rahemi Karizaki, A., & Mohammad Esmaili, M. (2020). Effect of pea cultivar and replacement and additive intercropping ratios of pea and spinach on yield and competition indices. *Journal of Crop Improvement, 23*(4), 939-952.

32. Seyedi, M., & Hamzei, J. (2017). Effect of conservation and conventional tillage on weeds biodiversity and water and nitrogen use efficiency in sole and additive intercropping of soybean with sunflower. *Journal of Agroecology*, *7*, 120-133. (In Persian with English abstract)
33. Soleimanpur, L., Naderi, R.A., Bijanzadehe, A., & Emam, Y. (2017). Response of faba bean and pea yield components to cereal-legume intercropping under weed competitions. *Iranian Journal of Pulse Research*, *8*, 150-163. (In Persian with English abstract)
34. Undie, U., Uwah, F.D., & Attoe, E.E. (2012). Effect of intercropping and crop arrangement on yield and productivity of late season maize/soybean mixtures in the humid environment of south southern Nigeria. *Journal of Agricultural Science*, *4*, 37-50. https://doi.org/10.5539/jas.v4n4p37
35. Vrignon-Brenas, S., Celette, F., Piquet-Pissaloux, A., Jeuffroy, M.H., & Davi, C. (2016). Early assessment of ecological services provided by forage legumes in relay intercropping. *European Journal of Agronomy*, *75*, 89-98. https://doi.org/10.1016/j.eja.2016.01.011
36. Wahla, I.H., Ahmad, R., Ehsanullah Ahmad, A., & Jabbar, A. (2009). Competitive functions of components crops in some barley based intercropping systems. *International Journal of Agricultural Biology*, *11*(1), 69-72.
37. Yang, F., Huang, S., Gao, R., Liu, W., Yong, T., Wang, X., Wu, X., & Yang, W. (2014). Growth of soybean seedling in relay strip intercropping systems in relation to light quantity and red: far-red ratio. *Field Crops Research*, *155*, 245-253. http://dx.doi.org/10.1016/j.fcr.2013.08.011

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

CC BY

Research Article
Vol. 37, No. 2, Summer 2023, p. 377-389

Improving the Antioxidant Activities of Sweet Basil (*Ocimum basilicum* L.) under the Influence of Different Species of Mycorrhiza under Water Stress

M. Amani[1], M. Sabzi-Nojadeh[2]*, S. Alizadeh-Salteh[3], M. Younessi-Hamzekhanlu[4], B. Farmani[5], H. Hatef Heris[6], Sh. Mohammadian[7], S. Piretarighat[8]

Received: 04-04-2022 Revised: 13-07-2022 Accepted: 14-08-2022 Available Online: 14-08-2022	**How to cite this article:** Amani, M., Sabzi-Nojadeh, M., Alizadeh-Salteh, S., Younessi-Hamzekhanlu, M., Farmani, B., Hatef Heris, H., Mohammadian, Sh., & Piretarighat, S. (2023). Improving the antioxidant activities of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) under the influence of different species of mycorrhiza under water stress. *Journal of Horticultural Science*, *37*(2), 377-389. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jhs.2022.76064.1157

Introduction

Medicinal plants have long had a special role in the traditional agricultural system of Iran and the use of these plants as medicine to prevent and treat diseases has been considered by traditional medicine experts since ancient times. Medicinal plants with rich sources of secondary metabolites provide the basic active ingredients of many medicines. Although the biosynthesis of secondary metabolites is genetically controlled, but their construction is strongly influenced by environmental factors. One of the important climatic factors that affect the distribution of plants around the world and can cause morphological, physiological and biochemical changes in the plant is the lack of available water. Basil seems to show little resistance to water stress. For this reason, there is a need for protective mechanisms for the basil plant against stress due to water shortage. Plants are able to reduce or eliminate the effects of water shortage stress by coexisting with a number of soil microorganisms. Inoculation of the plants with Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) has been exploited as an applicable strategy for reducing detrimental effects of water deficit stress. Present study was performed to evaluate the effects of three AMF on some physiological responses of *Ocimum basilicum* under water deficit stress.

Materials and Methods

The pot experiments were conducted as factorial based on completely randomized design blocks with three replications. The experimental factors were three AMF namely *Glomus etunicatum*, *Glomus mosseae* and *Glomus intraradices* and various soil moisture including severe stress, moderate stress, mild stress. Water stress

1 and 3- Ph.D Student in Production and Post-Harvest Physiology of Medicinal Plants and Associate Professor, Department of Horticultural Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran, respectively.
2 and 4- Assistant Professors, Department of Horticultural Science and Engineering, Ahar Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Tabriz, Tabriz, Iran
(*- Corresponding Author Email: M.sabzi@tabrizu.ac.ir)
5- Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Ahar Faculty of Agriculture and Natural Resource, University of Tabriz, Tabriz, Iran
6- Graduated MSc Student, Department of Plant Ecophysiology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
7 and 8- Graduated from Ahar School of Agriculture and Natural Resources, University of Tabriz, Tabriz, Iran
DOI: 10.22067/jhs.2022.76064.1157

was applied from the beginning to the end of flowering stage. After flowering stage, plants were harvested and traits such as total phenols and flavonoids, antioxidant capacity (DPPH), malondialdehyde (MDA), catalase and peroxidase enzymes were measured. To analyze the data, first the test of data normality and uniformity of variance within the treatment was performed and confirmed. The mean of treatments was compared by Duncan test at the level of 5% probability. SAS software (Ver. 9.3) was used to analyze the data and Excel software was used to draw the graphs.

Results and Discussion

The results of analysis of variance of the effect of mycorrhiza fungus and soil moisture on the studied parameters show that the effect of different levels of soil moisture on all traits was significant. The results of analysis of variance also showed that the effect of mycorrhiza on phenol and total flavonoids, antioxidant activity, catalase and peroxidase and malondialdehyde was significant at the level of one percent probability. According to the results of analysis of variance, the interaction effect of mycorrhiza on soil moisture on antioxidant activity was significant at 5% probability level and on total phenols and flavonoids, malondialdehyde, catalase and peroxidase at 1% probability level. Results showed that AMFs improve activity of catalase and peroxidase, antioxidant capacity and total phenols which led to decrease malondialdehyde content. Antioxidants as physiologically active compounds play an important role in plant resistance to stress. Increased oxygen species due to dehydration stress are a warning sign for plants and increase the activity of antioxidant enzymes. The plant's defense system increases the production of antioxidant enzymes to neutralize toxic oxygen forms, and fungi improve the intensity of this increase, which may be due to the chemical structure of the metal isoenzymes copper, zinc, and manganese. Factors sent to make antioxidant enzymes also contain the elements zinc and calcium. Mycorrhizal fungi increase the absorption of nutrients by sending more hormonal factors and increasing the activity of enzymes, all of which can be effective in increasing the activity of antioxidant enzymes.

Conclusion

When plants are exposed to dehydration stress, reactive oxygen species in them increase. The expression of antioxidant genes and the activity of antioxidants to eliminate reactive oxygen species are increased and the antioxidant defense system is improved and the tolerance to dehydration stress in the plant is increased. Scientists believe that peroxidase is involved in metabolic processes such as hormone catabolism, defense against pathogens, phenol oxidation, binding to cell structural proteins and cell wall polysaccharides. Present study revealed that application of AMFs can be good strategy for reducing harmful effects of water deficit stress in plants. Research has also shown that impregnating seeds with mycorrhiza increases antioxidants and reduces the amount of reactive oxygen species, a characteristic of resistance induction that occurs by this antagonist.

Keywords: Catalase enzyme, Dehydration, Flavonoid, Peroxidase enzyme, Total phenol

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

مقاله پژوهشی
جلد ۳۷، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۲، ص. ۳۸۹-۳۷۷

بهبود فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه دارویی ریحان تحت تأثیر گونه‌های مختلف قارچ میکوریزا در شرایط تنش کم‌آبی

مینا امانی[۱]- محسن سبزی نوجده‌ده[۲]*- سعیده علیزاده سالطه[۳]- مهدی یونسی حمزه‌خانلو[۴]- بیوک آقا فرمانی[۵]- حسین هاتف هریس[۶]- شیوا محمدیان[۷]- سودا پیرطریقت[۸]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۱/۱۵
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۴/۲۲
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۵/۲۳

چکیده

کمبود آب یکی از عوامل محدودکننده رشد و عملکرد گیاهان می‌باشد که به ویژه در مناطق خشک و نیمه خشک جهان از جمله ایران به طرق مختلف باعث محدودیت کاشت گیاهان و کاهش عملکرد محصول می‌شود. بهره‌گیری از رابطه همزیستی گیاه با قارچ‌های میکوریزای آربوسکول‌دار یکی از راهکارهای کاهش تنش کم‌آبی در گیاهان به شمار می‌رود. مطالعه حاضر با هدف ارزیابی برخی از صفات فیزیولوژیکی گیاه دارویی ریحان در شرایط گلخانه‌ای تحت تأثیر سطوح مختلف کم‌آبی به همراه سه گونه قارچ میکوریزا به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در شرایط گلخانه‌ای انجام گرفت. فاکتورهای آزمایشی شامل تنش کم آبی در سه سطح (تنش شدید: ۲۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای؛ تنش متوسط: ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای؛ تنش ملایم: ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای؛ و تیمار شاهد: ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای؛ و سه گونه قارچ میکوریزا شامل *Glomus intraradices*، *Glomus mosseae*، *Glomus etunicatum* به میزان ۳۰ گرم در هر گلدان و تیمار شاهد (بدون تلقیح قارچ) بود. مطابق نتایج به دست آمده افزایش سطح تنش کم‌آبی باعث کاهش رشد گیاهان گردید. همزیستی با میکوریزا باعث کاهش اثرات مخرب تنش کم آبی بر گیاه شد. با اعمال تنش کم‌آبی میزان مالون دی آلدهید، آنزیم کاتالاز و پراکسیداز، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فلاونوئید کل افزایش و فنول کل کاهش یافت. با توجه به نتایج آزمایش می‌توان بیان کرد که *G. mosseae* در مقایسه با سایر گونه‌ها تأثیر بیشتری در بهبود اثرات سوء ناشی از تنش کم‌آبی در اکثر صفات مورد ارزیابی داشت. درحالی‌که تأثیر قارچ *G. intraradicse* بر فلاونوئید کل، آنزیم کاتالاز و پراکسیداز بالاتر از گونه *G. mosseae* بود. در نهایت نتایج مشخص کرد که استفاده از قارچ میکوریزا در مقایسه با شاهد (بدون تلقیح با قارچ) می‌تواند ابزار مناسبی برای بهبود صفات فیزیولوژیکی و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی در شرایط تنش کم‌آبی باشد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم پراکسیداز، آنزیم کاتالاز، فلاونوئید، فنول کل، کمبود آب

---

۱ و ۳- به‌ترتیب دانشجوی دکتری فیزیولوژی تولید و پس از برداشت گیاهان باغی و دانشیار گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
۲ و ۴- استادیاران گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: M.sabzi@tabrizu.ac.ir)
۵- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
۶- دانش آموخته کارشناسی ارشد زراعت، گروه اکوفیزیولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.
۷ و ۸- دانش آموخته‌گان کارشناسی تولید و فراوری گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
DOI: 10.22067/jhs.2022.76064.1157

مقدمه

افزایش جمعیت و نیاز مبرم صنایع داروسازی به گیاهان دارویی به‌عنوان مواد اولیه تولید دارو و اهمیت مواد مؤثره آن‌ها در صنایع مختلف، سبب کشت و تولید گیاهان دارویی شده است (Abdullaev and Espinosa-Aguirre, 2004). باتوجه‌به نیاز صنایع دارویی، غذایی، آرایشی و بهداشتی به گیاهان دارویی به‌عنوان مواد اولیه تولیدات صنایع مذکور، کشت گیاهان دارویی در کشور ایران نیز در حال گسترش می‌باشد. ریحان متعلق به راسته لامینال[1]، تیره نعناع[2] و جنس اوسیموم[3] با نام علمی *Ocimum basilicum* L. و نام انگلیسی Sweet Basil می‌باشد. ریحان به‌عنوان یک منبع غنی از ترکیبات فنولیک[4] (به‌خصوص رزمانیک اسید[5] و کافئیک اسید[6]) و فلاونوئیدها[7] شناخته می‌شود که امروزه در صنایع داروسازی و صنایع آرایشی و بهداشتی استفاده فراوانی می‌شود (Omidbaigi *et al.*, 2003). باتوجه‌به گستردگی کشت ریحان در جهان، احتمال دارد این گیاه با تنش‌های غیر زنده محیطی مختلف از جمله تنش کم‌آبی در طول فصل رشد مواجه شود (Bairwa and Kaushik, 2010; Dadrasan *et al.*, 2015). تنش کمبود آب از جمله تنش‌های محیطی است که علاوه بر کاهش رشد رویشی و تغییر ساختارهای آناتومیکی گیاه، از طریق ایجاد تنش ثانویه نظیر تنش اکسیداتیو سبب تغییر در مسیرهای سنتز ترکیبات و متابولیت‌های ثانویه می‌شود (Koucheki *et al.*, 2012; Sharma and Kuhad, 2006). مطالعه‌های بسیاری در زمینه افزایش تجمع گونه‌های فعال اکسیژن طی تنش کمبود آب گزارش شده‌اند. گیاهان از طریق سازوکارهای آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی گونه‌های فعال اکسیژنی ایجاد شده را کاهش می‌دهند (Hasanuzzaman *et al.*, 2013). بقاء گیاه در شرایط تنش، مستلزم توانایی آن در برابر شرایط اسمزی شدید حاصل از تنش کم‌آبی است. هزینه کودهای شیمیایی از یک سو و مسائل زیست محیطی مرتبط با مصرف غیراصولی آن‌ها از سوی دیگر، تفکر استفاده از شیوه‌های زیستی تثبیت عناصر برای تقویت رشد مخصوصاً در شرایط تنش را قوت بخشید (Smith *et al.*, 2010).

یکی از شیوه‌های زیستی برای بهبود شرایط رشد گیاهان در شرایط تنش استفاده از کودهای زیستی است. کودهای زیستی شامل مواد نگهدارنده‌ای با جمعیت متراکم یک یا چند نوع ارگانیسم مفید خاکزی و یا به‌صورت فراورده متابولیکی این موجودات است که به‌منظور تأمین عناصر غذایی موردنیاز گیاه در یک اکوسیستم زراعی بکار می‌رود (Darzi *et al.*, 2006). کودهای زیستی نظیر قارچ‌های میکوریز نقش مهمی در کشاورزی پایدار دارند (Koucheki *et al.*, 2012). در حقیقت، قارچ‌های میکوریزا و همزیستی آن‌ها با گیاهان سبب تغییراتی در روابط آبی گیاه و درنتیجه، بهبود مقاومت به کم‌آبی یا تحمل در گیاه میزبان می‌شود (Habibzadeh *et al.*, 2015). قارچ‌های میکوریزا با جذب عناصرغذایی مانند فسفر و همچنین تعدیل اثر تنش‌های محیطی، کاهش آسیب‌های ریشه‌ای و تشدید فعالیت تثبیت زیستی نیتروژن سبب بهبود رشد گیاهان و افزایش عملکرد آن‌ها می‌شوند (Baum *et al.*, 2015). گزارش شده است قارچ میکوریزا از طریق کاهش پراکسیداسیون لیپیدها و نفوذپذیری غشا و افزایش تجمع ترکیبات تنظیم‌کننده اسمزی و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان قادر به کاهش خسارت ناشی از تنش کم‌آبی است (Naseem and Bano, 2014). سبرامانیان و همکاران (Subramanian *et al.*, 2006) مشاهده نمودند که تلقیح میکوریزایی، صفات فیزیولوژیکی گیاهان را از طریق افزایش میزان مواد فتوسنتزی، تغییر در جریان مواد فتوسنتزی در ساقه‌ها و ریشه‌ها و نیز تأثیر بر جذب عناصر معدنی از خاک تحت تأثیر قرار می‌دهد. این موضوع موقعیت تغذیه‌ای بافت‌های گیاه میزبان را تغییر می‌دهد و باعث جذب بیشتر از طریق ریشه‌ها، فتوسنتز بالاتر و به‌دنبال آن، افزایش وزن خشک گیاه تحت شرایط تنش آبی می‌گردد.

لذا باتوجه‌به محدودیت منابع آبی در کشور، به نظر می‌رسد به‌کارگیری قارچ‌های میکوریزا کارایی تولید گیاهان دارویی مثل ریحان را در مقابله با تنش کمبود آب بهبود دهد. بنابراین هدف از مطالعه حاضر، ارزیابی فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه دارویی ریحان در شرایط گلخانه‌ای تحت‌تأثیر تنش کم‌آبی به همراه سه گونه قارچ میکوریزا می‌باشد.

مواد و روش‌ها

طرح آزمایشی و فاکتورهای مورد بررسی

در این پژوهش به‌منظور بررسی تأثیر تنش کمبود آب به همراه سه گونه قارچ میکوریزا بر روی صفات فیزیولوژیکی در گیاه دارویی ریحان، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. کشت و آماده‌سازی قارچ تریکودرما در زمستان ۱۳۹۸، کاشت، داشت، برداشت و اندازه‌گیری صفات در گلخانه گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، دانشگاه تبریز اجرا شد. مطالعات آزمایشگاهی نیز در پاییز ۱۳۹۹ در آزمایشگاه‌های پایه و عمومی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر

1- Laminale
2- Lamiaceae
3- *Ocimum*
4- Phenolic
5- Razmanic acid
6- Caffeic acid
7- Flavonoids

(دانشگاه تبریز) به‌منظور اندازه‌گیری صفاتی مانند ویژگی‌های فیزیولوژیکی انجام گرفت.

فاکتورهای مورد بررسی شامل تنش رطوبتی و قارچ میکوریزا بودند که تنش کم‌آبی شامل چهار سطح (تنش شدید: ۲۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای؛ تنش متوسط: ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای؛ تنش ملایم: ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای؛ و تیمار شاهد: ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای و قارچ میکوریزا شامل سه گونه *Glomus intraradices*، *Glomus mosseae* و *Glomus etunicatum* به مقدار ۳۰ گرم در هر گلدان و تیمار شاهد (بدون قارچ) بود.

تکثیر میکوریزا

گونه‌های قارچ میکوریزا از گروه خاک‌شناسی دانشگاه تبریز تهیه شد که زادمایه قارچ‌های میکوریزا به روش گلدانی و با میزبان سورگوم تکثیر شده بودند (Auge, 2001). بدین منظور ابتدا خاک لوم شنی پس از عبور از الک دو میلی‌متری در اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۲ اتمسفر به مدت دو ساعت استریل شده بودند و سپس با زادمایه قارچ به نسبت ۳۰ گرم (مخلوط اسپور، هیف قارچ و ریشه میکوریزا) با یک کیلوگرم خاک مخلوط و سپس بذور سورگوم بعد از ضدعفونی با هیپوکلریت سدیم یک درصد (به مدت ۱۰ دقیقه) در گلدان هفت کیلوگرمی کاشته شده بود. به‌منظور اطمینان از جوانه‌زنی بذور و رشد گیاهچه‌ها در هر گلدان بیش از ۱۰ عدد بذر کاشته شده بود که بعد از حصول اطمینان از کلونیزاسیون ریشه‌ها تعداد گیاهان در هر گلدان به ۱۰ عدد کاهش یافته بود. گلدان‌ها در محیط گلخانه با طول روز ۱۶ ساعت و رطوبت ۴۰ تا ۵۰ درجه سانتی‌گراد و هشت ساعت شب با رطوبت ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری و بعد از گذشت شش ماه، زادمایه آماده شده بود. در طول این مدت گیاهان با محلول غذایی راریسون[1] (عناصر ریزمغذی آهن، روی، مس و منگنز) با نصف مقدار فسفر تغذیه شده بودند. پس از قطع بخش هوایی، خاک گلدان به‌عنوان زادمایه قارچ‌های میکوریزا برداشت شده بود (Ali Asgharzad, 2000).

آماده‌سازی بذور جهت کشت

به‌منظور ضدعفونی بذور و جلوگیری از آلودگی‌های احتمالی قارچی، بذرها به مدت دو تا سه دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم یک درصد قرار داده شد و سپس با آب مقطر شست‌وشو داده شدند. همچنین برای کشت بذور ریحان، جهت اطمینان از قدرت جوانه‌زنی بذرها تست جوانه‌زنی روی آن‌ها انجام گرفت.

نحوه کشت و تلقیح با قارچ

برای کشت از گلدان‌های استریل هفت کیلویی با قطر دهانه ۳۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۲۱/۵ سانتی‌متر استفاده شد. به‌منظور کاشت بذرها، ابتدا دوسوم حجم گلدان با خاک لومی شنی پر شد، سپس ۳۰ گرم از مایه تلقیح روی سطح خاک پخش گردید. نهایتاً به اندازه چهار سانتی‌متر خاک روی آن اضافه شده و کشت بذرهای رقم بومی اهر که در باغات شهرستان اهر کشت و کار می‌شوند انجام شد. در پایان یک سانتی‌متر خاک روی بذرها ریخته شد. اولین آبیاری با آب شهری بلافاصله بعد از کشت انجام پذیرفت. جوانه‌زنی بذرها در محیط گلخانه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد بعد از گذشت ۱۰ روز آغاز گردید. در مرحله شروع گلدهی، تنش کمبود آب در سه سطح ۲۵، ۵۰، ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای و تیمار شاهد (۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای) تا سه هفته بعد از آن اعمال شد. اعمال تنش کم‌آبی به این صورت بود که گلدان‌ها به‌صورت روزانه توزین می‌شدند و نقصان رطوبتی در هر تیمار با آبیاری گلدان‌ها تا رسیدن به سطح تیمار موردنظر برطرف می‌شد. بر اساس بررسی منابع قبلی که انجام شده بود که تحمل تنش ۲۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای برای گیاه ریحان بسیار مشکل و تنش‌زا بود و با بروز علائم بسیار مختصری از پلاسیدگی برگ‌ها، به نظر می‌رسید که با ادامه تنش، گیاه دچار مرگ شود. به همین دلیل در طول این سه هفته در هر زمانی که مشاهده می‌شد که گیاه توان تحمل تنش شدید را ندارد، همه تیمارهای تنش کم‌آبی به مدت یک یا دو روز متوقف می‌شد و آبیاری در حد ظرفیت زراعی انجام می‌شد تا گیاهان خود را بازیابی کنند و مجدداً اعمال تیمارها ادامه پیدا می‌کرد (Rahimi *et al.*, 2019). پس از اعمال تنش، نمونه‌برداری و اندازه‌گیری صفات در مرحله تمام گل صورت پذیرفت. همچنین رنگ‌آمیزی ریشه‌ها با اسید فوشین برای بررسی کلونیزاسیون ریشه‌ها در زیر میکروسکوپ انجام شد (شکل ۱) (Kormanik and McGraw, 1982).

صفات مورد اندازه‌گیری

پس از رسیدن گیاهان به دوره کامل گلدهی، اندازه‌گیری صفات مختلف شامل فنول با استفاده از معرف فولین سیوکالتیو در طیف جذبی ۷۶۵ نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتر انجام شد (Du *et al.*, 2009). فلاونوئید کل به روش رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم اندازه‌گیری شد (Chang *et al.*, 2002). اندازه‌گیری مالون دی آلدهید به وسیله تست تیوباربیتوریک اسید[2] با سنجش میزان مالون دی آلدهید[3] انجام شد (Zheng *et al.*, 2005). برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی از خاصیت خنثی‌کنندگی رادیکال آزاد DPPH[4] استفاده شد (Dehghan and Khoshkam, 2012). سنجش فعالیت

1- Rarison

2- Thiobarbituric acid (TBA)
3- Malondialdehyde (MDA)
4- 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl

آنزیم کاتالاز با اندازه‌گیری سرعت حذف پراکسید هیدروژن صورت پذیرفت (Zhang *et al.*, 2013). سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز با استفاده از گایاکول و اندازه‌گیری میزان جذب تتراگایاکول تشکیل شده از آن در نتیجه فعالیت پراکسیداز در ۴۷۰ نانومتر انجام گرفت (Chance and Maehly, 1955). درصد کلونیزاسیون نیز با روش Kormanik وMcGraw (Kormanik and McGraw, 1982) انجام گرفت.

تجزیه‌وتحلیل داده‌ها

در ابتدا آزمون نرمال بودن باقی‌مانده‌ها و یکنواختی واریانس‌های درون تیماری انجام شده و مورد تأیید قرار گرفت. تجزیه واریانس داده‌ها به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد. مقایسه میانگین تیمارها توسط آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد. برای تجزیه‌وتحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SAS (Ver. 9.3) و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار اکسل (Excel) استفاده شد.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس صفات مربوط به تنش کم‌آبی، قارچ میکوریزا و برهم‌کنش آن‌ها

نتایج حاصل از تجزیه‌وتحلیل واریانس اثر قارچ میکوریزا و تنش کم‌آبی بر پارامترهای مورد بررسی در جدول ۱ آورده شده است. طبق نتایج تجزیه واریانس اثر متقابل میکوریزا در تنش کم‌آبی بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی در سطح احتمال پنج درصد و بر صفات فنول و فلاونوئید کل، مالون دی آلدهید، آنزیم کاتالاز و پراکسیداز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود.

مقایسه میانگین اثرات اصلی تنش کم‌آبی، قارچ میکوریزا و برهم‌کنش آن‌ها

مقایسه میانگین اثر متقابل قارچ میکوریزا در سطوح مختلف تنش کم‌آبی نشان داد که با اعمال تنش کم‌آبی میزان فنول گیاهان ریحان میکوریزایی و غیرمیکوریزایی کاهش یافت. در تمام سطوح تنش کم‌آبی میزان فنول در گیاهان میکوریزایی بیشتر از گیاهان غیرمیکوریزایی بود. همان‌طور که در شکل ۱ ملاحظه می‌شود بیشترین و کمترین میزان فنول به ترتیب به تیمار شاهد (۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای) گیاهان میکوریزایی *G.mosseae* (۸۹/۹۸ میلی‌گرم اسید گالیک در ۱۰۰ گرم وزن تر بوته) و تیمار تنش کم‌آبی ۲۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای گیاهان غیرمیکوریزایی (۵۸/۰۹ میلی‌گرم اسید گالیک در ۱۰۰ گرم وزن تر بوته) تعلق داشت.

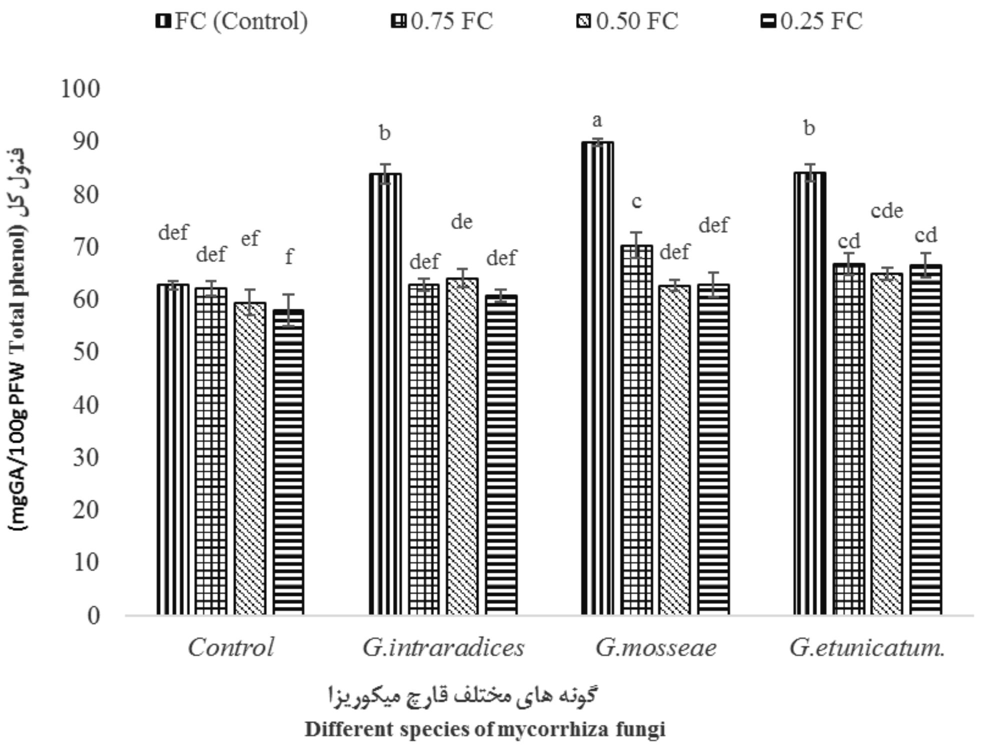
جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس اثر گونه‌های مختلف قارچ میکوریزا، تنش کم‌آبی و اثر متقابل بین دو فاکتور بر صفات اندازه‌گیری شده در ریحان

Table 1- Results of analysis of variance of the effect of different species of mycorrhizal fungi, soil moisture and the interaction between two factors on the traits measured in basil

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean squares: فنول کل Total phenol	فلاونوئید کل Flavonoids	فعالیت آنتی‌اکسیدانی Antioxidant activity	مالون دی آلدهید Malone di aldehyde	آنزیم پراکسیداز Peroxidase enzyme	آنزیم کاتالاز Catalase enzyme	درصد کلونیزاسیون (Percentage of colonization)
بلوک Block	2	13.74ns	5.1ns	0.19ns	6.01ns	96.71**	2.6**	10.76ns
میکوریزا آربوسکولار Arbuscular mycorrhiza (AM)	3	290.8**	177.86**	3.86**	2361.12**	551.33**	16.42**	13.08ns
تنش کم‌آبی Drougth stress (DS)	3	869.3**	858.49**	12.88**	4937.41**	1050.18**	14.74**	9.08ns
AM×DS	9	78.39**	42.06**	0.65*	913.23**	102.87**	1.62**	2.79ns
خطا Error	20	9.68	5.75	0.27	13.1	13.12	0.15	11.22
ضریب تغییرات C.V (%)	-	4.59	3.69	5.95	0.49	5.07	4.52	6.79

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

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



شکل ۱- تأثیر بر همکنش گونه‌های مختلف قارچ میکوریزا در سطوح مختلف تنش کم‌آبی بر فنول کل ریحان

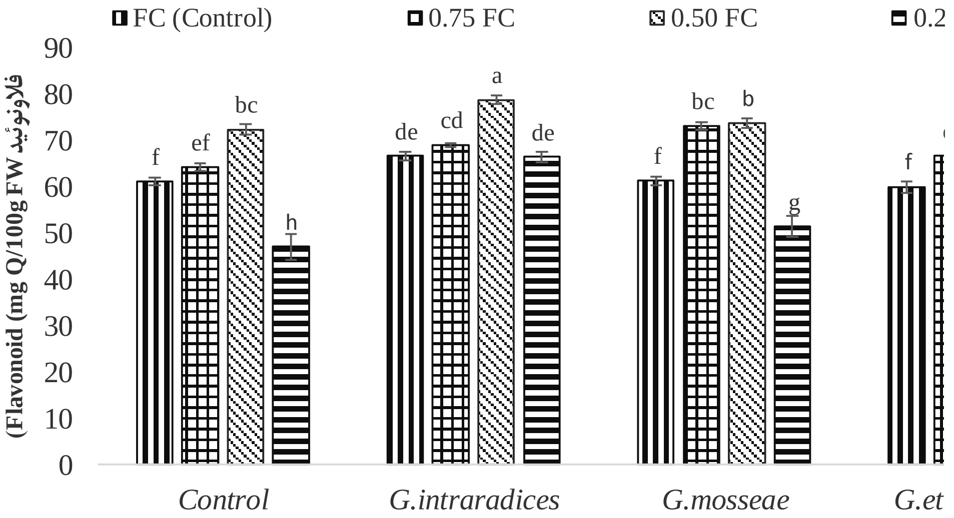
Figure 1- The interaction effect of different species of mycorrhizal fungi at different levels of drought stress on total basil phenol

The index above each column indicates the standard error (DMRT, $p \leq 0.05$).

افزایش محتوای فنول ریحان میکوریزایی نسبت به شاهد می‌تواند از یک‌سو دلیلی بر دخالت این ترکیبات در ایجاد همزیستی و از سوی دیگر نشان‌دهنده تحریک تولید آن‌ها توسط میکوریزا باشد. قارچ‌های میکوریزا با افزایش فعالیت آنزیمی متفاوت در گیاهان سبب تغییرات فیزیولوژیک در آن‌ها می‌شوند (Gill and Tuteja, 2010). افزایش انباشتگی فنول‌ها در گیاهان تیمار شده با قارچ می‌تواند در نتیجه افزایش فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز باشد. افزایش فعالیت آنزیمی گیاه (پلی فنول اکسیداز و پراکسیداز) می‌تواند در ارتباط با افزایش محتوای فنول کل در نمونه‌های تلقیح شده با قارچ باشد. نتایجی نشان داد که در شرایط کمبود تنش کم آبی میزان فنول گیاه دارویی گل آهار کاهش یافت، درحالی‌که کاربرد قارچ میکوریزای *G. mosseae* میزان فنول کل را در شرایط تنش کم‌آبی افزایش داد (Heidari *et al.*, 2016).

مقایسه میانگین اثر متقابل تنش کم‌آبی در قارچ میکوریزا نشان داد که بیشترین میزان فلاونوئید کل به ترتیب به تیمار ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای گیاهان میکوریزایی *G.intraradices* (۷۸/۸۵ میلی‌گرم کوئرستین در ۱۰۰ گرم وزن تر بوته) تعلق داشت (شکل ۲). فلاونوئیدها ترکیبات پلی‌فنولیک و از مهمترین ترکیبات ثانویه گیاهان هستند. تجمع برخی از فلاونوئیدها، شاهدی بر وقوع تنش است. در موارد بسیاری، این مواد نقش آنتی‌اکسیدانی را به‌عنوان بخشی از پاسخ گیاه در برابر تنش بازی می‌کنند. همچنین این مواد در کاهش اثرات تشعشات مضر و مواد سمی و همچنین تنظیم پاسخ گیاهان در برابر تنش از طریق کنترل انتقال اکسین‌ها نقش دارند (Tattini *et al.*, 2004).

نتایج مقایسه میانگین تأثیر برهمکنش میکوریزا در تنش کم‌آبی بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی در شکل ۳ نشان‌داده‌شده است. باتوجه‌به شکل با اعمال تنش کمبود آب، فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزایش یافت و در رطوبت ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای (تنش متوسط کم‌آبی) بیشترین مقادیر آن مشاهده شد و تیمارهای میکوریزایی باعث افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی شدند. بالاترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۱۰/۳۳ درصد) مربوط به گونه قارچی *G. etunicatum* با تنش کم‌آبی ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای مشاهده شد و کمترین آن مربوط به تیمار شاهد (بدون قارچ و رطوبت ظرفیت مزرعه‌ای) با میانگین ۶/۶۴۶ درصد بود. آنتی‌اکسیدان‌ها به‌عنوان ترکیبات فعال فیزیولوژیکی نقش مهمی را در مقاومت گیاهان به تنش دارند (Tattini *et al.*, 2004).



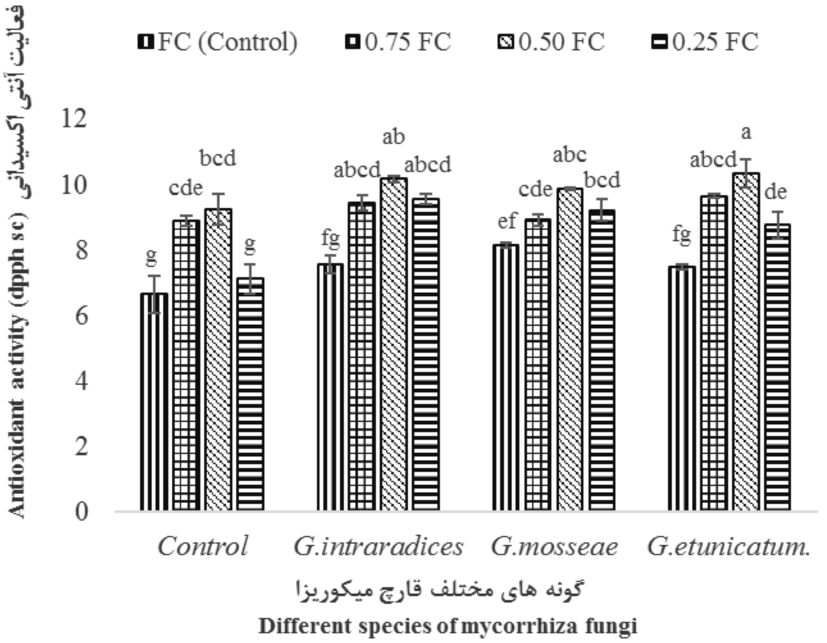
شکل ۲- تأثیر برهمکنش گونه‌های مختلف قارچ میکوریزا در سطوح مختلف تنش کم‌آبی بر فلاونوئید کل برگ ریحان

Figure 2- The interaction of effect of different species of mycorrhizal fungi at different levels of drought stress on total flavonoids in basil leaf

The index above each column indicates the standard error (DMRT, *p≤0.05*).

افزایش گونه‌های فعال اکسیژن ناشی از تنش کم‌آبی زنگ خطری برای گیاهان محسوب شده و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را به دنبال دارند (Siddiqui *et al.*, 2010). سیستم دفاعی گیاه تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را برای خنثی‌کردن شکل‌های سمی اکسیژن افزایش می‌دهد و قارچ شدت این افزایش را بهبود می‌بخشند که می‌تواند به دلیل ساختمان شیمیایی ایزوآنزیم‌های فلزی مس، روی و منگنز باشد. همچنین فاکتورهای ارسالی برای ساخت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نیز حاوی عناصر روی و کلسیم است (Ajay *et al.*, 2010). قارچ‌های میکوریزا با افزایش جذب عناصرغذایی سبب ارسال بیشتر فاکتورهای هورمونی و افزایش فعالیت آنزیم‌ها می‌شوند که همگی در افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌توانند مؤثر باشند. قارچ میکوریزا بر رشد دانهال‌های نارنج سه برگ تأثیر مثبت داشته است و میزان اکسیژن‌های فعال را در ریشه و برگ گیاهان تلقیح شده نسبت به گیاهان شاهد کاهش داده است. میزان آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی در گیاهان میکوریزایی افزایش معنی‌داری نشان داده است که همین موضوع آسیب‌های اکسیداتیو در این گیاهان را کاهش داده است (Wu and Xia, 2006).

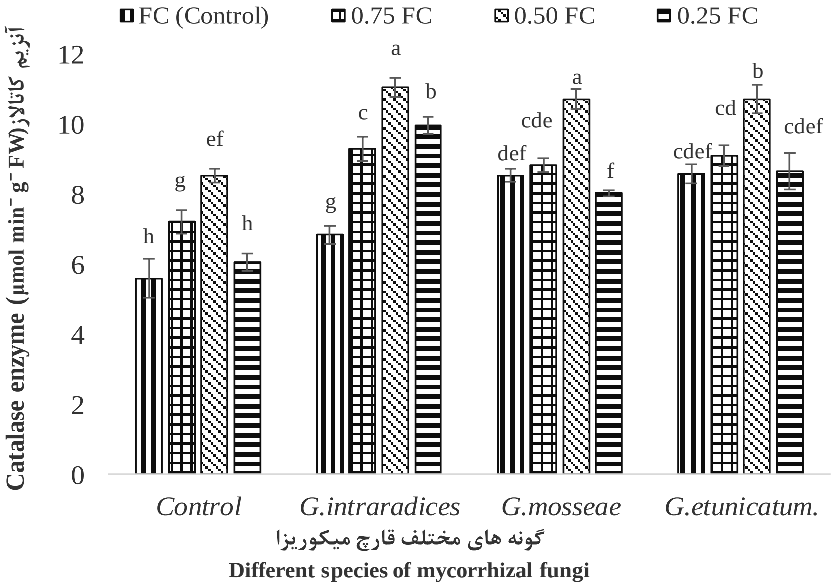
مقایسه میانگین اثر متقابل تنش کم‌آبی در قارچ میکوریزا نشان داد که با اعمال تنش کم‌آبی میزان آنزیم کاتالاز گیاهان ریحان میکوریزایی و غیرمیکوریزایی افزایش یافت. در تمام سطوح تنش کم‌آبی میزان آنزیم کاتالاز در گیاهان میکوریزایی بیشتر از گیاهان غیرمیکوریزایی بود. همان‌طور که در شکل ۴ ملاحظه می‌شود بیشترین و کمترین میزان آنزیم کاتالاز به ترتیب به تیمار ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای گیاهان میکوریزایی *G. intraradices* (۱۱/۰۷ میکرو مول پراکسید هیدروژن در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) و تیمار شاهد (۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای) گیاهان غیرمیکوریزایی (۵/۶۲ میکرو مول پراکسید هیدروژن در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) تعلق دارد. همان‌طور که مشاهده می‌شود در همه تیمارها و نیز تیمار بدون تلقیح، بالاترین مقدار آنزیم کاتالاز در تنش متوسط کم‌آبی تولید شد (Liu *et al.*, 2008). پاسخ آنتی‌اکسیدانی، فرایندی مهم برای محافظت گیاهان در مقابل آسیب‌های اکسیداتیوی است که در اثر طیف وسیعی از تنش‌های محیطی شامل شوری، کم‌آبی، فلزات سنگین و سرما ایجاد می‌شود (Fazeli *et al.*, 2018). همچنین ممکن است با تخریب ناشی از پروتئازهای پراکسی زوم القا شده مرتبط باشد یا ممکن است پیامد غیرفعال شدن نوری آنزیم باشد (Liu *et al.*, 2008). در شرایط تنش افزایش متوسط فعالیت کاتالاز برگ در گیاهان تلقیح شده با میکوریزا نشان می‌دهد تلقیح در این گیاهان قادر به افزایش فعالیت این آنزیم برای مقابله با خسارت اکسیداتیو ناشی از کمبود آب است، از این رو مایه‌های تلقیح قادر به تنظیم واکنش‌های اکسیداتیو و دفاع آنتی‌اکسیدانی هستند.



شکل ۳- تأثیر برهمکنش گونه‌های مختلف قارچ میکوریزا در سطوح مختلف تنش کم‌آبی بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ ریحان

Figure 3- The interaction effect of different species of mycorrhizal fungi at different levels of drought stress on the antioxidant activity amount of basil leaf

The index above each column indicates the standard error (DMRT, $p \leq 0.05$).

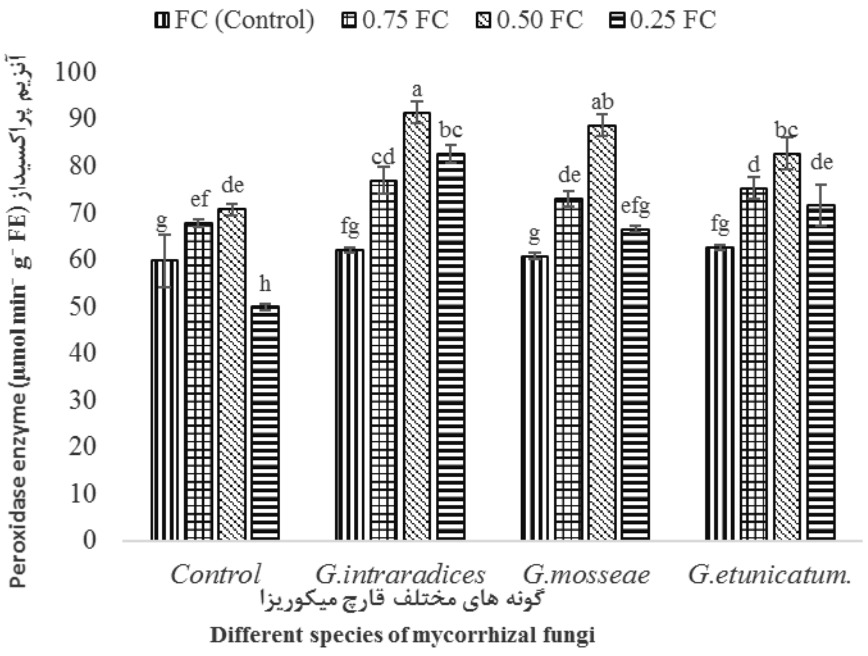


شکل ٤- تأثیر برهمکنش گونه‌های مختلف قارچ میکوریزا در سطوح مختلف تنش کم‌آبی بر میزان آنزیم کاتالاز در برگ ریحان

Figure 4- The interaction effect of different species of mycorrhizal fungi at different levels of drought stress on catalase amount in basil leaf

The index above each column indicates the standard error (DMRT, $p \leq 0.05$).

مقایسه میانگین اثر متقابل تنش کم‌آبی در قارچ میکوریزا نشان داد که با اعمال تنش کم‌آبی میزان آنزیم پراکسیداز گیاهان ریحان میکوریزایی و غیرمیکوریزایی افزایش یافت. در تمام سطوح تنش کم‌آبی میزان آنزیم پراکسیداز در گیاهان میکوریزایی بیشتر از گیاهان غیرمیکوریزایی بود. همان‌طور که در شکل ۵ ملاحظه می‌شود بیشترین و کمترین میزان آنزیم پراکسیداز به ترتیب به تیمار ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای گیاهان میکوریزایی *G. intraradices* (۹۱/۳۸ میکرو مول در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) و تیمار شاهد (بدون تلقیح قارچ و ۲۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای) و گیاهان غیرمیکوریزایی (۴۹/۸۶ میکرو مول در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) تعلق دارد. پراکسیداز به‌عنوان آنزیم آنتی‌اکسیدان، سلول را در برابر گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن محافظت می‌کند. افزایش فعالیت پراکسیداز تحت تنش کم‌آبی نشان‌دهنده شکل‌گیری بخش زیادی H_2O_2 در طول تنش کم‌آبی است. در پژوهش ایران خاک (Irankhak, 2014) نتایج حاصل از بررسی فعالیت آنزیم پراکسیداز نشان داد که تیمار میکروارگانیسم‌ها و برهمکنش تنش کم‌آبی و میکروارگانیسم تأثیر معنی‌داری بر میزان فعالیت ویژه آنزیم پراکسیداز گیاه داشت.



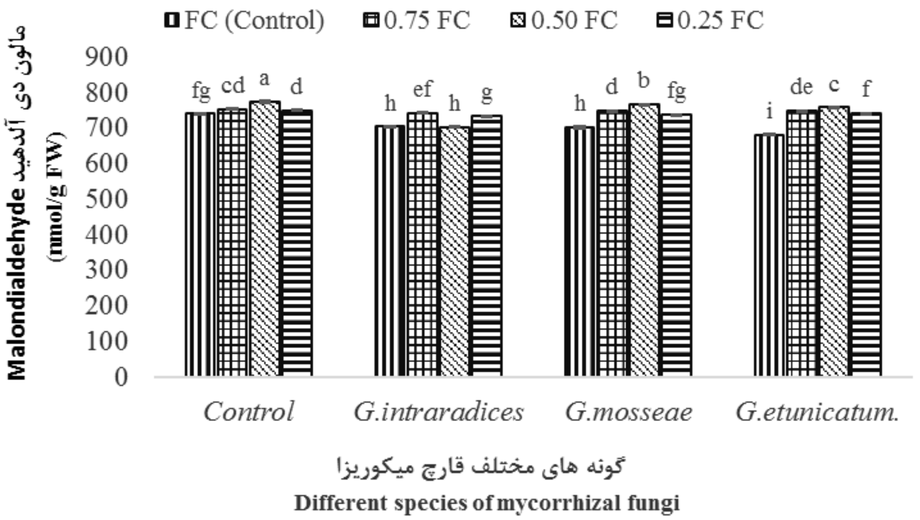
شکل ۵- تأثیر برهمکنش گونه‌های مختلف قارچ میکوریزا در سطوح مختلف تنش کم‌آبی بر میزان آنزیم پراکسیداز در برگ ریحان

Figure 5- The interaction effect of different species of mycorrhizal fungi at different levels of drought stress on the peroxidase contect of basil leaf

The index above each column indicates the standard error (DMRT, $p \leq 0.05$).

مقایسه میانگین اثر متقابل تنش کم‌آبی در قارچ میکوریزا نشان داد که با اعمال تنش کم‌آبی میزان مالون دی آلدهید گیاهان ریحان میکوریزایی و غیرمیکوریزایی افزایش یافت. در تمام سطوح تنش کم آبی میزان مالون دی آلدهید در گیاهان میکوریزایی کمتر از گیاهان غیرمیکوریزایی بود. همان‌طور که در شکل ۶ ملاحظه می‌شود بیشترین و کمترین میزان مالون دی آلدهید به ترتیب به تیمار شاهد (۵۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای) (۷۷۴/۰۹ نانو مول بر گرم وزن تر بوته) و تیمار *G. etunicatum* (۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای) (۶۸۲/۳۳ نانو مول بر گرم وزن تر بوته) تعلق دارد. مالون دی آلدهید یک محصول پراکسیداسیون اسیدهای چرب اشباع نشده در فسفولیپیدها است. از سطح پراکسیداسیون لیپید به‌عنوان یک نشانه رادیکال آزاد مضر برای غشای سلولی تحت شرایط تنش استفاده شده است؛ بنابراین مالون دی آلدهید به‌عنوان یک معرف برای بررسی میزان صدمات غشا در شرایط تنش مورداستفاده قرار می‌گیرد (Gill and Tuteja, 2010; Jaleel *et al.*, 2007). افزایش تنش کم‌آبی باعث ایجاد تنش اکسیداتیو در سلول‌ها و پدید آمدن اختلال در اعمال فیزیولوژیکی سلول می‌شود. این تنش ثانویه به علت ایجاد رادیکال‌های آزاد اکسیژنی است که در درون سلول تولید می‌شود. رادیکال-

های آزاد موجود در سلول باعث صدمه به لیپیدها و اسیدهای چرب غشا شده و رادیکال‌های لیپید و پراکسید و هیدروکسی تولید می‌کنند، رادیکال‌های جدید تولید شده می‌توانند به واکنش‌های اکسیداسیون لیپیدها سرعت ببخشند (Mo *et al.*, 2016). گزارش شده است که اثر تنش کم‌آبی، غلظت مالون دی آلدهید در گونه‌های میکوریزی نسبت به شاهد کاهش می‌یابد، اما این کاهش در گونه‌های قارچ همزیست یکسان نیست (Ruíz-Sánchez *et al.*, 2011).



شکل ٦- تأثیر برهمکنش گونه‌های مختلف قارچ میکوریزا در سطوح مختلف تنش کم‌آبی بر محتوی مالون دی آلدهید در برگ ریحان

Figure 6- The interaction effect of different species of mycorrhizal fungi at different levels of soil moisture on malondialdehyde content of basil leaf

The index above each column indicates the standard error (DMRT, $p \leq 0.05$).

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از بررسی صفات فیزیولوژیکی نشان داد که قارچ میکوریزا باعث افزایش مقدار فنول و فلاونوئید کل، فعالیت آنتی اکسیدانی، آنزیم کاتالاز و پراکسیداز و کاهش مالون دی آلدهید در گیاه ریحان شدند. همچنین نتایج نشان داد که قارچ *G. mosseae* در اکثر صفات مورد بررسی روی گیاه ریحان بهتر عمل کرده است. بنابراین می‌توان گفت گونه *G. mosseae* توانایی بهتری جهت برقراری رابطه همزیستی با ریشه ریحان دارد. نتایج حاصل از بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نشان داد که تنش کم‌آبی، قارچ میکوریزا و اثر متقابل قارچ و تنش کم‌آبی تأثیر معنی‌داری بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز ریحان داشتند.

منابع

1. Abdullaev, F.I., & Espinosa-Aguirre, J.J. (2004). Biomedical properties of saffron and its potential use in cancer therapy and chemoprevention trials. *Cancer Detection and Prevention*, *28*(6), 426-432. https://doi.org/10.1016/j.cdp.2004.09.002
2. Ajay, A., Sairam, R.K., & Srivastava, G.C. (2002). Oxidative stress and antioxidative system in plants. *Current Science*, *8282*(10), 122-123.
3. Ali Asgharzad, N. (2000). *Distribution and population density of arbuscular mycorrhizal fungi in saline soils of Tabriz plain and determining the effects of inoculation on improving onion and barley tolerance to salinity stress*. Ph.D Disertation, Faculty of Agriculture, University of Tehran. (In Persian)
4. Auge, R.M. (2001). Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis, *Mycorrhiza*, *11*(1), 30-42. https://doi.org/10.1007/s005720100097
5. Bairwa, R.C., & Kaushik, M.K. (2010). Response of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) varieties to fertility levels and growth regulators on productivity, profitability and quality. *Journal of Progressive Agriculture*, *1*(1), 65-67.
6. Baum, C., El-Tohamy, W., & Gruda, N. (2015). Increasing the productivity and product quality of vegetable crops

using arbuscular mycorrhizal fungi, *A review. Scientia Horticulturae*, *187*, 131-141. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.03.002

7. Chance, B., & Maehly, A.C. (1955). *Assays of Catalases and Peroxidases*. In: Methods in Enzymology, (Colowick, S.P. and Kaplan, N.O., eds.) Academic Press, New York, 764-775. https://doi.org/10.1016/S0076-6879(55)02300-8
8. Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M., & Chern, J.C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, *10*(3), 178-182.
9. Dadrasan, M., Chaichi, M.R., Pourbabaee, A.A., Yazdani, D., & Keshavarz-Afshar, R. (2015). Deficit irrigation and biological fertilizer influence on yield and *Trigonelline* production of fenugreek. *Industrial Crops and Products*, *77*, 156-162. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.08.040
10. Darzi, M.T., Ghalavand, A., Rejali, F., & Sefidkon, F. (2006). Effects of Biofertilizers Application on Yield and Yield Components in Fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, *22*(4), 276-292. (In Persian)
11. Dehghan, G., & Khoshkam, Z. (2012). Tin (II)-quercetin complex: Synthesis, spectral characterization and antioxidant activity. *Food Chemistry*, *131*(2), 422-427. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.08.074
12. Du, G., Li, M., Ma, F., & Liang, D. (2009). Antioxidant capacity and the relationship with polyphenol and vitamin C in Actinidia fruits. *Food Chemistry*, *113*(2), 557-562. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.08.025
13. Fazeli, A., Zarei, B., & Tahmasebi, Z. (2018). The effect of salinity stress and salicylic acid on some physiological and biochemical traits of Black cumin (*Nigella sativa* L.). *Iranian Journal of Plant Biology*, *9*(4), 69-83. (In Persian). https://doi.org/10.22108/ijpb.2018.104605.1029
14. Gill, S.S., & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, *48*(12), 909-930. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016
15. Habibzadeh, Y., Jalilian, J., Zardashti, M.R., Pirzad, A., & Eini, O. (2015). Some morpho-physiological characteristics of Mung Bean mycorrhizal plant under different irrigation regimes in field condition. *Journal of Plant Nutrition*, *38*(11), 1754-1767. https://doi.org/10.1080/01904167.2015.1043374
16. Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Gill, S.S., & Fujita, M. (2013). Drought stress responses in plants, oxidative stress, and antioxidant defense. *Climate Change and Plant Abiotic Stress Tolerance*, *4*(1), 209-250. https://doi.org/10.1002/9783527675265.ch09
17. Heidari, Z., Nazarideljou, M.J., Rezaie Danesh, Y., & Khezrinejad, N. (2016). Morphophysiological and biochemical responses of *Zinnia elegans* to different irrigation regimes in symbiosis with *Glomus mosseae*. *International Journal of Horticultural Science and Technology*, *3*(1), 19-32.
18. Irankhah, S. (2014). *The effect of Arbuscular mycorrhiza vesicular fungus and growth-promoting bacteria and drought stress on morphophysiological and biochemical properties of fenugreek*. Master Thesis in Plant Physiology, Faculty of Science, Department of Biology, Ferdowsi University of Mashhad. (In Persian)
19. Jaleel, C.A., Gopi, B., Sankar, P., Manivannan, A., Kishorekumar, R.S., & Panneers, L. (2007). Studies on germination, seedling vigour, lipid peroxidation and proline metabolism in *Catharanthus roseus* seedling under salt stress. *South African Journal of Botany*, *73*(2), 190-195. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2006.11.001
20. Kormanik, P.P., & McGraw, A.C. (1982). Quantification of vesicular-arbusculare mycorrhiza in plant roots. In: N. C. Schneck(ed.) Methods and principles of mycorrhizal research. *American Phytopathological Society*, 37-45.
21. Koucheki, A., Nasiri Mohalati, M., Mondani, F., & Khorramdel, S. (2012). *New Aspect on Ecological physiological aspects of crop plants*, 1st ed. Ferdowsi Mashhad University. Press, Ferdowsi Mashhad (Iran) pp. 613.
22. Liu, J., Xie, X., Du, J., Sun, J., & Bai, X. (2008). Effects of simultaneous drought and heat stress on Kentucky bluegrass. *Scientia Horticulturae*, *115*(2), 190-195. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2007.08.003
23. Mo, Y., Wang, Y., Yang, R., Zheng, J., Liu, C., Li, H., & Zhang, X. (2016). Regulation of plant growth, photosynthesis, antioxidation and osmosis by an arbuscular mycorrhizal fungus in watermelon seedlings under well-watered and drought conditions. *Frontiers in Plant Science*, *7*, 644. https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00644
24. Naseem, H., & Bano, A. (2014). Role of plant growth-promoting rhizobacteria and their exopolysaccharide in drought tolerance of maize. *Journal of Plant Interactions*, *9*(1), 689-701. https://doi.org/10.1080/17429145.2014.902125
25. Omidbaigi, R., Hassani, A., & Sefidkon, F. (2003). Essential oil content and composition of sweet basil (*Ocimum basilicum*) at different irrigation regimes. *Journal of Essential oil Bearing Plants*, *6*(2), 104-108. https://doi.org/10.1080/0972-060X.2003.10643335
26. Rahimi, Y., Taleei, A., & Ranjbar, M. (2019). Biochemical changes of peppermint under drought stress condition. *Iranian Journal of Field Crop Science*, *50*(2), 59-75. (In Persian). http://dx.doi.org/10.22059/ijfcs.2018.239868.654367
27. Ruíz-Sánchez, M., Armada, E., Muñoz, Y., de Salamone, I. E. G., Aroca, R., Ruíz-Lozano, J. M., & Azcón, R. (2011). Azospirillum and arbuscular mycorrhizal colonization enhance rice growth and physiological traits under well-watered and drought conditions. *Journal of Plant Physiology*, *168*(10), 1031-1037.

https://doi.org/10.1016/j.jplph.2010.12.019

28. Sharma, K.D., & Kuhad, M.S. (2006). Influence of potassium level and soil moisture regime on biochemical metabolites of *Brassica* species. *Brassica Journal*, *8*, 71-74.
29. Siddiqui, M.H., Mohammad, F., Khan, M.N., Al-Whaibi, M.H., & Bahkali, A.H. (2010). Nitrogen in relation to photosynthetic capacity and accumulation of osmoprotectant and nutrients in *Brassica genotypes* grown under salt stress. *Agricultural Sciences in China*, *9*(5), 671-680. https://doi.org/10.1016/S1671-2927(09)60142-5
30. Smith, S.E., Facelli, E., Pope, S., & Andrew Smith, F. (2010). Plant performance in stressful environments: interpreting new and established knowledge of the roles of arbuscular mycorrhizas. *Plant and Soil*, *326*, 3-20. https://doi.org/10.1007/s11104-009-9981-5
31. Subramanian, K.S., Santhanakrishnan, P., & Balasubramanian, P. (2006). Responses of field grown tomato plants to arbuscular mycorrhizal fungal colonization under varying intensities of drought stress. *Scientia Horticulturae*, *107*(3), 245-253. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2005.07.006
32. Tattini, M., Galardi, C., Pinelli, P., Massai, R., Remorini, D., & Agati, G. (2004). Differential accumulation of flavonoids and hydroxycinnamates in leaves of *Ligustrum vulgare* under excess light and drought stress. *New Phytologist*, *163*(3), 547-561. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2004.01126.x
33. Wu, Q.S., & Xia, R.X. (2006). Arbuscular mycorrhizal fungi influence growth, osmotic adjustment and photosynthesis of citrus under well-watered and water stress conditions. *Journal of Plant Physiology*, *163*(4), 417-425. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2005.04.024
34. Zhang, Z., Huber, D.J., & Rao, J. (2013). Antioxidant systems of ripening avocado (*Persea americana* Mill.) fruit following treatment at the preclimacteric stage with aqueous 1-methylcyclopropene. *Postharvest Biology and Technology*, *76*, 58-64. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2012.09.003
35. Zheng, X.L., Tian, S.P., Xu, Y., & Li, B.Q. (2005). Effects of exogenous oxalic acid on ripening and decay incidence in mango fruit during storage at controlled atmosphere. *Journal of Fruit Science*, *22*(4), 351-355. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.01.016

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

CC BY

Research Article
Vol. 37, No. 2, Summer 2023, p. 391-407

Eco-physiological, Biochemical and Herbicidal Characteristics of *Lavandula stricta*, *Cassia obovata*, *Cocculus pendulus* and *Solanum xanthocarpum*

H. Gholami[1], M.J. Saharkhiz[2*], M. Shirdel[3], K. Sartavi[4], H. Mazareie[5]

Received: 10-04-2022
Revised: 09-11-2022
Accepted: 01-12-2022
Available Online: 06-12-2022

How to cite this article:
Gholami, H., Saharkhiz, M.J., Shirdel, M., Sartavi, K., & Mazareie, H. (2023). Eco-physiological, biochemical and herbicidal characteristics of *Lavandula stricta*, *Cassia obovata, Cocculus pendulus* and *Solanum xanthocarpum*. *Journal of Horticultural Science*, *37*(2), 391-407. (In Persian with English abstract). http://doi.org/10.22067/jhs.2022.76154.1159

Introduction

Lavandula stricta, *Cassia obovata*, *Cocculus pendulus*, and *Solanum xanthocarpum* are among the species that can be grown in Bushehr province, and so far, there is no report describing the ecophysiological, herbicidal and biochemical characteristics of these species in Iran. In recent decades, many chemical herbicides have been used to control weeds in agricultural ecosystems. Despite the many benefits of these herbicides, their improper use has caused devastating effects on the environment and agricultural production and ultimately has harmed human health. At present, the approach of developed countries is to use non-chemical methods and natural materials (biocides) to control weeds. Bushehr province with an area of about 252,653 Km^2 in southern Iran and the Persian Gulf and at an altitude of 0 to195 meters above sea level. The average rainfall in Bushehr province is 250 mm. Bushehr province has a great variety in terms of having medicinal plants that allopathic substances and secondary metabolites of these plants have received less attention. Therefore, the identification of secondary metabolites and plants with allopathic properties is very important for the production of biological herbicides.

Materials and Methods

This study was conducted to evaluate the eco-physiological, biochemical and herbicidal characteristics of *Lavandula stricta*, *Cassia obovata*, *Cocculus pendulus* and *Solanum xanthocarpum*. The plants were collected in April and May 2019. The location was situated in Kangan and Dashti, Bushehr Province, Iran. The ecological characteristics of the four areas such as latitude and longitude (UTM) and altitude were also recorded. Also, in order to determine the physicochemical properties of the soil in the collection areas of the studied plants, samples were taken from 15 different points of plant growth, from a depth of 0-30 cm and their properties were reported. In order to investigate the phytotoxic activity of the studied plants on germination and growth characteristics of *Malva sylvestris* and *Chenopodium album* in laboratory conditions, the seeds were first disinfected in 5% sodium hypochlorite for 5 minutes. Then the seeds were washed for 15 minutes and then dried at room temperature. In this study, Solanum xanthocarpum juice and alcoholic extracts of Lavandula stricta, *Cassia obovata* and *Cocculus pendulus* were used to investigate the phytotoxic properties and biochemical traits. From the extracts, concentrations of 0 (distilled water), 200, 400, 600, 800 and 1000 µl.L^{-1} were prepared and added to Petri dishes containing 25 seeds. In order to germinate the seeds, Petri dishes containing the extracts related to the extract were placed in suitable light conditions at a temperature of 25°C. Two weeks after treatment, germination percentage (%), germination rate index (number of day), radicle and plumule length (cm) and allopathic index were measured. 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

1, 2 and 3- Former M.Sc. Student, Professor and Ph.D. Student, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran, respectively.
(*- Corresponding Authors Email: saharkhiz@shirazu.ac.ir)
4 and 5- Research Experts, Forests and Rangelands Department, Bushehr Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Bushehr, Iran
DOI: 10.22067/jhs.2022.76154.1159

Spectrophotometer, BioTek Instruments, Inc., USA. Measuring the total phenols was performed according to Folin's reagent method and the use of gallic acid as standard 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. Flavones and flavonols were measured using 2% aluminum chloride and methanol at 425 nm. To isolate and measure the amount of polyphenols, an HPLC Agilent HPLC 1200 series model was used. Data were analyzed by using Duncan's multiple range test ($P< 0.05$) by SAS, version 9.4 for Windows.

Results and Discussion

Among the studied plants, the highest and lowest amount of total phenol was found in *Cocculus pendulus* and *Cassia obovata*, respectively. The results showed, the highest amount of the total flavonoid in the extract, was achieved in *Lavandula stricta* plants collected in Kangan. The lowest (0.37 mg QUE. 100 g^{-1} DW) and highest (2.79 mg QUE. 100 g^{-1} DW) amount of flavon and flavonol was found in *Cassia obovata* and *Cocculus pendulus*, respectively. Also, antioxidant activity (I%) for *Cocculus pendulus, Lavandula stricta* and *Solanum xanthocarpum* were 77, 57 and 35%, respectively. Although, the lowest amount of antioxidant activity was found in *Cassia obovata* plants collected in Dashti. The results showed, the *Lavandula stricta* plants collected in Kangan had p-coumaric acid (PC) and ellagic acid (EA) by 0.565 and 1.28 mg g^{-1} DW. Among the phenolic acids evaluated, only catechin (0.262 mg g^{-1} DW) and p-coumaric acid (0.163 mg g^{-1} DW) were observed in the *Cocculus pendulus* plants collected in Kangan. The *Cassia obovata* plants collected in Dashti, had ellagic acid by 0.915 mg g^{-1} DW. The results of this study showed that the phenolic compounds identified in *Solanum xanthocarpum* juice were caffeic acid, chlorogenic acid, pi-coumaric acid, vanillin and hesperidin. Chlorogenic acid was the predominant phenolic compound by 457 mg g^{-1} DW. Laboratory results showed *Cocculus pendulus* and *Solanum xanthocarpum* extracts had the most inhibition effect on the germination and growth of *Malva sylvestris* at the concentration of 1000 µl L^{-1}.

Conclusion

In this study, as the concentration of the extracts increased, the germination percentage, germination rate index (GRI), radicle and plumule lengths of *Chenopodium album* decreased significantly. Moreover, *Solanum xanthocarpum* juice showed the highest inhibition effect on *Chenopodium album* growth and germination at 1000 µl L^{-1}. Due to the high potential allelopathy of the *Cocculus pendulus* and *Solanum xanthocarpum*, they can be used for *Malva sylvestris* and *Chenopodium album* control. Also, *Cocculus pendulus* extract can be used as a natural antioxidant source in related industries.

Keywords: Antioxidants, Chlorogenic acid, Ellagic acid, Flavonoids, Herbicidal

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

مقاله پژوهشی
جلد ۳۷، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۲، ص.۴۰۷-۳۹۱

بررسی ویژگی‌های اکوفیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و علف‌کشی اسطوخودوس افراشته، سنا بومی، زامور و بادمجان وحشی

حسین غلامی[۱]- محمدجمال سحرخیز[۲*]- محسن شیردل[۳]- کهزاد سرطاوی[۴]- حمید مزارعی[۵]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۱/۲۱
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۸/۱۸
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۹/۱۰

چکیده

اسطوخودوس افراشته (*Lavandula stricta*)، سنا بومی (*Cassia obovata*)، زامور (*Cocculus pendulus*) و بادمجان وحشی (*Solanum xanthocarpum*) از گونه‌های قابل رویش در استان بوشهر می‌باشند و تاکنون گزارشی مبنی بر توصیف ویژگی‌های اکوفیزیولوژیک، علف‌کشی و بیوشیمیایی این گونه‌ها در ایران وجود ندارد. برای این منظور، گیاهان مورد نظر در بهار سال ۱۳۹۸ در استان بوشهر از طبیعت جمع‌آوری و در شرایط سایه و جریان هوای آزاد به‌منظور عصاره‌گیری و اندازه‌گیری صفات مورد نظر، خشک شدند. در بین گیاهان مورد مطالعه بیشترین و کمترین میزان فنول کل به‌ترتیب در گیاهان زامور جمع‌آوری شده در کیلومتر ۳ جاده گله‌دار و گیاه سنا بومی جمع‌آوری شده در منطقه کاکی مشاهده گردید. گیاهان اسطوخودوس افراشته برداشت شده از منطقه گلوگاه، دارای بالاترین میزان فلاونوئید کل بود. کمترین و بیشترین میزان فلاوون و فلاونول مربوط به گیاهان سنا بومی و زامور بود. در این مطالعه، بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی به‌ترتیب در گیاهان زامور، اسطوخودوس افراشته و بادمجان وحشی گزارش گردید. گیاهان سنا بومی جمع‌آوری شده از منطقه کاکی دارای کمترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی بود. گیاهان اسطوخودوس افراشته برداشت شده از منطقه گلوگاه، دارای ترکیبات فنولی پی‌کوماریک اسید و الاژیک اسید می‌باشد. در بین اسیدهای فنولی مورد ارزیابی، اسیدهای فنولی کاتچین و پی‌کوماریک اسید در گیاهان زامور جمع‌آوری شده در کیلومتر ۳ جاده گله‌دار مشاهده شد. گیاه سنا بومی جمع‌آوری شده از منطقه کاکی و اسطوخودوس افراشته دارای الاژیک اسید در پیکره رویشی بودند. نتایج این بررسی نشان داد اسیدهای فنولی شناسایی شده در بادمجان وحشی جمع آوری شده از بندر سیراف، کافئیک اسید، کلروژنیک اسید، پی‌کوماریک اسید، وانیلین و هسپریدین بود. در بین اسیدهای فنولی شناسایی شده، کلروژنیک اسید ترکیب غالب در بادمجان وحشی بود. نتایج این پژوهش نشان داد بیشترین اثر بازدارندگی روی جوانه‌زنی بذور پنیرک مربوط به غلظت ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر عصاره‌های زامور و بادمجان وحشی بود، به نحوی که به طور کامل جوانه‌زنی را متوقف کردند. به طور کلی با افزایش غلظت عصاره از صفر تا ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر، شاخص آللوپاتی در مورد همه گیاهان منفی‌تر شد. افزون بر این، با به کارگیری عصاره‌های الکلی گیاهان مورد مطالعه و افزایش غلظت از صفر تا ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر، میانگین درصد، سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه سلمه‌تره به طور معنی‌داری کاهش یافت. کمترین شاخص آللوپاتی در غلظت ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر عصاره بادمجان وحشی مشاهده شد که بیشترین اثر بازدارندگی (شاخص آللوپاتی ۰/۵۸-) را بر رشد و جوانه‌زنی بذور سلمه‌تره داشت. با توجه به پتانسیل بالای علف‌کشی عصاره‌های زامور و بادمجان وحشی، می‌توان از آن‌ها در راستای مدیریت علف‌های هرز پنیرک و سلمه‌تره استفاده کرد. همچنین می‌توان از عصاره گیاه زامور به عنوان یک منبع آنتی‌اکسیدان طبیعی در صنایع مرتبط استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، الاژیک اسید، کلروژنیک اسید، فلاونوئید، علف‌کشی

۱، ۲ و ۳- به‌ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد، استاد و دانشجوی دکتری گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز
(*- نویسنده مسئول: Email: saharkhiz@shirazu.ac.ir)
۴ و ۵- کارشناسان پژوهشی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان بوشهر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بوشهر

DOI: 10.22067/jhs.2022.76154.1159

مقدمه

اسطوخودوس افراشته با نـام علمـی .*Lavandula stricta* Del گیاهی بوته‌ای با قاعده چوبی از خانواده Lamiaceae، به ارتفاع ۴۵ تا ۲۰۰ سانتی‌متر می‌باشد (Jamzad, 2012). اسطوخودوس افراشـته در شیب شمال غرب در رویشگاه‌های کوهستانی در اقلیم گرم و خشـک بیابانی با بارندگی متوسط سالانه ۱۵۰ تا ۲۰۰ میلی‌متر و ارتفاع ۵۰ تـا ۳۰۰ متر از سطح دریا پراکنش دارد (Soltanipour, 2005). زامور بـا نـام علمـی *Cocculus pendulus* از خـانواده Menispermaceae گیاهی درختچه‌ای و دائمی است که در تمام طول سال سبز بـوده و منحصراً در مناطق صخره‌ای و کوهستان‌های خشـک و بیابـان‌هـای شرقی رویش دارد. در بلوچستان پودر اندام رویشی این گیـاه را در آب خیس کرده و از عصاره آن به‌منظـور درمـان اسـهال خـونی اسـتفاده می‌کننـد. ایـن گیـاه حـاوی مـواد مـؤثره مهمـی چـون آلکالوئیـدها، کربوهیدارت‌ها، گلیکوزیدها، فیتوسترول‌ها، چربی، ترکیبـات فنولیـک، تری‌ترپن‌ها، فلاونوئیدها و تانن‌هـا مـی‌باشـد. بـه‌دلیـل وجـود اثـرات ضدمیکروبی برخی ترکیبات این گیاه، کـاربرد آن مـی‌توانـد در تولیـد داروهای ضد میکروبی حائز اهمیت باشد (Raisi *et al.*, 2016). سـنا بومی با نام علمی *Cassia obovata* از تیره Fabaceae، گیاهی پایا، درختچه‌ای و یکی از گیاهان دارویی رشد یافته در شرایط رویشـگاهی جنوب ایران می‌باشد. در منابع جدید بـه ایـن گیـاه *Senna italica* Mill می‌گویند. متابولیت‌های ثانویه این گیاه شامل روغن می‌باشد. از مهمترین ترکیبات موجود در روغن این گیاه ۲ و۶–دی، سـک بوتیـل فنول، دی–ان اکتیل فتالات، می‌باشد. این گیاه می‌توانـد کاربردهـای گسترده‌ای در زمینه فارماکولوژیکی و دارویی داشته باشـد (Yagi *et al.*, 2013). بادمجان وحشی یـا شـربیان بـا نـام علمـی *Solanum xanthocarpum* از خانواده Solanaceae، گیاهی پایا در پایه چـوبی و درختچه‌هایی گزنده و تیغ‌دار به‌رنگ سبز متمایل به زرد با ارتفاع ۶۰ تا ۲۰۰ سانتی‌متر می‌باشـد. از بادمجـان وحشـی عـلاوه بـر مصـارف خوراکی که بیشتر به صورت ترشی به‌مصرف می‌رسد، بـه‌عنـوان ضـد انگل روده نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد. مهمتـرین ترکیبـات ثانویـه این گیاه را آلکالوئیدها، استرول‌ها، سـاپونین‌هـا، فلاونوئیـدها و سـایر گلیکوزیدها و همچنین کربوهیدرات‌ها، اسیدهای چرب و آمینواسـیدها تشکیل می‌دهند (Singh and Singh, 2010).

کشور ایران با داشتن شرایط اقلیمی و تنوع گیاهی به‌مراتب بهتـر از اروپا، در حال حاضر تنها ۶۰ تا ۹۰ میلیـون دلار از تجـارت جهـانی گیاهان دارویی را به خود اختصـاص داده اسـت. خوشـبختانه بـا روی آوردن دنیا، به‌خصوص کشورهای پیشرفته به استفاده از فرآورده‌هـای گیاهی و مصرف رو افزون آن در جهان، چـه در صـنعت داروسـازی و چه در صنایع غذایی و آرایشـی بهداشـتی و بـا توجـه بـه تنـوع آب و هوایی کشور و امکان رویـش اکثـر گیاهـان در آن، فرصـتی طلایـی نصیب کشورمان گشته است تا از آن به بهترین شکل ممکن اسـتفاده نموده و حضور خود را در بازارهای جهانی بیش از پیش افزایش دهـد (Kashfi Bonab, 2009). استان بوشهر با مساحتی حـدود ۲۵۲۶۵۳ کیلومتر مربع در جنوب ایران و حاشیه خلیج فارس بین ۲۷ درجه و ۱۴ دقیقه تا ۳۰ درجه و ۱۶ دقیقه عرض شمالی و ۵۰ درجه و ۶ دقیقه تـا ۵۲ درجه و ۵۸ دقیقه طول شرقی از نصف‌النهار گرینویچ قرار گرفته و در ارتفاع ۱۹۵–۰ متر از سطح دریا گسترش دارد. میانگین بارندگی در استان بوشـهر ۲۵۰ میلـی‌متـر اسـت (Sartavi and Gholamian, 2004).

در دهـه‌هـای اخیـر بـه منظـور مقابلـه بـا علـف‌هـای هـرز در اکوسیستم‌های کشاورزی از علف‌کش‌های شیمیایی به‌وفـور اسـتفاده می‌شـود. درواقـع امـروزه، بخـش قابل‌تـوجهی از افـزایش عملکـرد محصولات زراعی و باغی، مرهون مصرف علـف‌کـش‌هـای شـیمیایی است. با وجود مزایای بسیار زیاد این علف‌کش‌ها، اسـتفاده نادرسـت و بی‌رویه از آن‌ها باعث ایجاد اثرات مخرب زیسـت‌محیطـی و تولیـدات کشاورزی و در نهایت آسیب زدن به سـلامت انسـان شـده اسـت. در حال حاضر رویکرد کشورهای پیشرفته به‌سمت استفاده از روش‌هـای غیرشیمیایی و مواد طبیعی (علف‌کش‌های زیسـتی) جهـت مبـارزه بـا علف‌های هرز است. علف‌کش‌های زیستی، نوعی علف‌کش است کـه با استفاده از مواد آللوپاتیک گیاهان و یا قارچ‌ها ساخته شده و معمـولاً بایستی خصوصیاتی همچون عمل سریع، مانـدگاری کـم در محـیط و صرفه اقتصادی داشته باشد (Vyvyan, 2002).

مواد آللوکمیکال[1] معمولاً با تأثیر بر جوانه‌زنی و جنبه‌های رشـد و نموی گیاهان سبب کاهش یا افزایش تنفس، اختلال در بـاز و بسـته شدن روزنه‌ها، بازدارندگی عمل برخـی آنـزیم‌هـا، اخـتلال در تقسـیم سلول و ساختار دیواره سلولی، کاهش نرخ فتوسنتز، کاهش نفوذپذیری و عملکرد غشاهای سلولی و انتقال فعال آنزیم‌های خـاص و تغییـر در تعامل تنظیم‌کننده‌های رشد می‌گردند (Duke, 2003). در حال حاضر به‌دلیل آثار زیان‌بار استفاده از علف‌کش‌های مصنوعی بر اکوسیستم‌ها و نیز پیدایش مقاومت در علف‌های هرز نسبت به این ترکیبات، تلاش های گسترده‌ای به‌منظور استفاده از خاصیت دگرآسـیبی اسـانس‌هـا و عصاره‌های گیاهان دارویی در برنامه‌های مدیریت علف‌هـای هـرز در جریان است. در پژوهش‌های پیشین نتایج موفقیـت‌آمیـزی مبنـی بـر خواص علـف‌کشـی[2] ریحـان (*Ocimum basilicum*) و مرزنجـوش (*Origanum vulgare*) بـر روی سـلمه‌تـره (*Chenopodium album*) و علف هرز *Echinochloa crus-gall* گزارش شده اسـت

1- Allelochemical
2- Herbicidal activity

(Dayan *et al.*, 2009). به‌کارگیری عصاره آبی شبدر برسیم (*Trifolium alexandrium*) تا حد زیادی درصد جوانه‌زنی و ویژگی‌های رشدی علف‌های هرز تاج‌خروس سفید، تاج خروس هیبرید، سلمه‌تره و تاج ریزی سیاه را کاهش می‌دهد؛ به‌طوری‌که کمترین اثر بازدارندگی در تاجریزی سیاه و بیشترین اثر بازدارندگی در تاج‌خروس هیبرید مشاهده گردید (Kazerooni Monfared *et al.*, 2013). عصاره اتانولی رازیانه (*Foeniculum vulgare*) سبب کاهش معنی‌دار رشد در جو وحشی، یولاف وحشی، چاودار و قاصدک شد. اثر بازدارندگی عصاره اتانولی رازیانه بر چاودار و قاصدک بسیار مشهودتر بود، به‌طوری‌که کاربرد غلظت‌های ۲/۵، ۵ و ۱۰ درصد باعث توقف جوانه‌زنی بذور در این گیاهان شد (Nourimand *et al.*, 2011). نتایج مشابهی از اثرات غلظت بالای پودر گیاه دارویی اسپند روی یولاف وحشی و پیچک وحشی (Sodaeizadeh *et al.*, 2010)، عصاره برگ شیرین‌بیان روی ویژگی‌های رشدی ذرت (Najafi *et al.*, 2013) و عصاره اندام هوایی آنغوزه روی بارهنگ (Zirak *et al.*, 2014) گزارش شده است.

خاصیت آللوپاتیک متابولیت‌های ثانویه گیاهی به‌منظور کنترل علف‌های هرز در پژوهش‌های متعددی گزارش شده است. مطالعات پژوهشگران نشان می‌دهد بیوسنتز ترکیبات آللوپاتیک در گیاه بسته به گونه، اندام گیاهی و فنولوژی رشد گیاه متفاوت است (Kobayashi, 2004; Achhireddy and Singh, 1984;Jadhav *et al.*, 1997). در پژوهشی خاصیت بازدارندگی ترکیب سیترال موجود در اسانس علف لیمو بر رشد علف‌های هرز مورد تأیید قرار گرفت (Dayan *et al.*, 2009). در پژوهشی اثرات بازدارندگی و سمیت مونوترپن ۱ و ۸ سینئول بر سرعت جوانه‌زنی و خصوصیات رشدی شاهی و تربچه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این پژوهش نشان داد این ترکیب نسبت به سایر ترکیبات مونوترپنی خاصیت علف‌کشی و آللوپاتیکی بالاتری دارد (Martino *et al.*, 2010). در پژوهشی دیگر اثر آللوپاتیک و سمیت بالای کارواکرول و تیمول بر ویژگی‌های رشدی علف‌های هرز گل گندم زرد (*Centaurea salsotitialis*)، گونه‌های ترشک (*Rumex nepalensis*)، خردل وحشی (*Sinapis arvensis*)، شیرتیغک معمولی (*Sonchus oleraceus*)، ترب وحشی (*Raphanus raphanistrum*) و تاج‌خروس بررسی و مورد تأیید قرار گرفت. پتانسیل سمیت تیمول و کارواکرول خالص‌سازی شده بر جوانه‌زنی و ویژگی‌های رشدی سلمه‌تره و تاج‌خروس نشان داد که ترکیبات مذکور دارای اثرات سمیت بیشتری نسبت به ترکیب 2,4-D معمول مورد استفاده در کنترل علف‌های هرز مورد مطالعه بود (Kordali *et al.*, 2008). بسیاری دیگر از اسانس‌های گیاهی خاصیت علف‌کشی از خود نشان داده‌اند اما هنوز به صورت تجاری درنیامده و تحقیقات و مطالعات در این زمینه همچنان در حال بررسی است. با توجه به اینکه تاکنون گزارشی مبنی بر توصیف ویژگی‌های اکوفیزیولوژیک، علف‌کشی و بیوشیمیایی اسطوخودوس افراشته، زامور، سنا بومی و بادمجان وحشی در ایران وجود ندارد، این پژوهش برای این منظور انجام شد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری و خصوصیات اکوفیزیولوژیکی مناطق مورد مطالعه

گیاهان دارویی اسطوخودوس افراشته، سنا بومی، زامور و بادمجان وحشی در بهار سال ۱۳۹۸ از ۴ منطقه (جدول ۱) در استان بوشهر از طبیعت جمع‌آوری و در شرایط سایه و جریان هوای آزاد به‌منظور عصاره‌گیری و اندازه‌گیری صفات مورد نظر، خشک شدند. خصوصیات اکولوژیکی مناطق چهارگانه مثل طول و عرض جغرافیایی (UTM) و ارتفاع از سطح دریا نیز یادداشت برداری شد و در جدول ۱ گزارش شد. همچنین جهت تعیین خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک مناطق جمع‌آوری گیاهان مورد مطالعه، از ۱۵ نقطه مختلف مکان رشدی گیاهان، از عمق ۳۰-۰ سانتی‌متری نمونه‌برداری صورت گرفت و پس از خشک‌کردن در معرض هوا و عبور از الک دو میلی‌متری به آزمایشگاه منتقل و ویژگی‌های آن مورد ارزیابی قرار گرفت (جدول ۲).

تعیین پتانسیل علف‌کشی

به‌منظور بررسی فعالیت علف‌کشی گیاهان مورد مطالعه بر جوانه‌زنی و ویژگی‌های رشدی علف‌های هرز پنیرک (*Malva sylvestris*) و سلمه‌تره (*Chenopodium album*) در شرایط آزمایشگاه، ابتدا بذور مورد نظر به مدت ۵ دقیقه در هیپوکلرید سدیم ۵ درصد ضدعفونی شدند. سپس ۱۵ دقیقه عملیات شست‌وشوی بذرها و سپس خشک‌کردن آن‌ها در دمای اتاق انجام شد (Hejazi, 1999). در این پژوهش برای بررسی خصوصیات علف‌کشی و صفات بیوشیمیایی از آب میوه بادمجان وحشی و عصاره الکلی اسطوخودوس افراشته، سنا بومی و زامور استفاده شد. برای تهیه آب میوه، میوه‌ها برش داده شد و در پارچه ململ قرار داده شد و با دست آب‌میوه گرفته شد. به‌منظور تهیه عصاره الکلی از یک گرم اندام هوایی و ۵ میلی‌لیتر متانول ۷۰ درصد استفاده شد. محلول‌های به‌دست آمده به‌مدت ۴۸ ساعت با سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه در شیکر قرار داده شدند. سپس به‌مدت ۱۵ دقیقه داخل سانتریفیوژ با دور ۶۰۰۰ دور در دقیقه قرار گرفت. سپس قسمت روشناور صاف شد و به‌عنوان عصاره جهت انجام آزمایشات بعدی استفاده شد (Wojdyło *et al.*, 2007). از استوک‌ها، غلظت‌های صفر (آب مقطر)، ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر تهیه و به پتری‌دیش‌های حاوی ۲۵ عدد بذر دارای کاغذ صافی واتمن شماره دو اضافه شدند. به‌منظور جوانه‌زنی بذرها، پتری‌دیش‌های حاوی تیمارهای مربوط به عصاره در شرایط مناسب

نوری و دمای ۲۵ درجه‌سانتی‌گراد قرار داده شدند. دو هفته پس از اعمال تیمارها درصد جوانه‌زنی طبق روش (Saadatian *et al.*, 2012)، سرعت جوانه زنی طبق روش Hartman و همکاران (Hartman *et al.*, 1990)، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه با استفاده از خط‌کش و شاخص آللوپاتیک طبق روش (Richardson *et al.*, 1994) اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری خصوصیات بیوشیمیایی

میزان ترکیبات فنولی کل با روش فولین سیوکالتیو اندازه‌گیری شد. برای سنجش فنول کل اسطوخودوس افراشته، سنا بومی، زاموز و بادمجان وحشی ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره هر نمونه با ۲۰۰ میکرولیتر فولین ۵۰ درصد مخلوط و ۲۰۰۰ میکرولیتر آب مقطر به محلول فوق اضافه 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 اسپکتروفتومتر (Epoch Microplate Spectrophotometer, BioTek Instruments, Inc., USA) در طول‌موج ۷۶۵ نانومتر قرائت شد و میزان فنول بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید در ۱۰۰ گرم وزن خشک (در بادمجان وحشی ۱۰۰ میلی‌لیتر آب میوه) بیان شد (Wojdyło *et al.*, 2007).

مقدار کل ترکیبات فلاونوئیدی از طریق روش رنگ‌سنجی ارزیابی گردید. بدین ترتیب که ابتدا یک میلی‌لیتر از عصاره هر نمونه برداشته شده و سپس ۳۰۰ میکرولیتر نیتریت‌سدیم 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 درنهایت میزان جذب نور با استفاده از روش اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۵۱۰ نانومتر قرائت شد و داده‌ها به‌صورت میلی‌گرم کوئرستین در ۱۰۰ گرم وزن خشک (در بادمجان وحشی ۱۰۰ میلی‌لیتر آب میوه) گزارش شد (Menichini *et al.*, 2009).

برای سنجش میزان فلاوون و فلاونول ابتدا یک میلی‌لیتر از عصاره تهیه‌شده با یک میلی‌لیتر کلریدآلومینیوم ۲ درصد مخلوط و سپس محلول فوق توسط متانول به حجم ۲/۵ میلی‌لیتر رسانده و چند ثانیه به‌شدت تکان داده شد. بعد از گذشت ۳۰ دقیقه میزان جذب با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۴۲۵ نانومتر قرائت شد. برای رسم منحنی استاندارد نیز از غلظت‌های مختلف کوئرستین استفاده شد و نتایج به‌صورت میلی‌گرم در صد گرم وزن خشک (در بادمجان وحشی ۱۰۰ میلی‌لیتر آب میوه) بیان گردید (Popova *et al.*, 2004).

درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد با استفاده از آزمون DPPH[1] انجام شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش اسپکتروفتومتری بر پایه کاهش رادیکال‌های آزاد انجام می‌شود. ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره‌های مذکور با غلظت‌های متفاوت (۰ تا ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به ۵ میلی‌لیتر محلول DPPH (با غلظت ۰/۰۰۴ درصد) اضافه شد. در محلول شاهد (بلانک) به‌جای عصاره، ۱۰۰ میکرولیتر متانول اضافه شد. محلول‌ها به‌مدت ۱۰ ثانیه به‌شدت تکان داده شده و سپس به‌مدت ۳۰ دقیقه جهت واکنش در دمای اتاق و در محیط تاریک نگهداری شدند و سپس جذب نمونه‌ها با استفاده از روش اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۵۱۷ نانومتر قرائت شد. درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (Oke *et al.*, 2009).

۱۰۰ × (عدد جذب شاهد)/((عدد جذب نمونه – عدد جذب شاهد)) = درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد

شناسایی و ارزیابی محتوای فنولیک‌اسیدها با استفاده از دستگاه HPLC

نمونه‌های گیاهی خشک‌شده با آسیاب پودر و سپس از الک عبور داده شد و به‌اندازه ۰/۲ گرم توزین و داخل میکروتیوب ریخته شد. در مرحله بعد به مقدار ۱۰ برابر نمونه (دو میلی‌لیتر)، حلال (۸۵ درصد متانول + ۱۵ درصد استیک‌اسید) اضافه شد. دمیدن گاز ازت به درون میکروتیوب‌ها جهت جلوگیری از اکسیده‌شدن ترکیبات فنولی صورت گرفت. میکروتیوب‌ها با پوشش فویل پوشانده شدند و درون فریزر به‌مدت ۲۴ ساعت قرار گرفتند. در مرحله بعد میکروتیوب‌های حاوی عصاره همراه با فویل درون حمام اولتراسونیک، به‌مدت ۱۵ دقیقه در دمای پایین و در تاریکی قرار گرفتند تا ترکیبات فنولی به‌صورت کامل از بافت گیاه جدا شود و وارد حلال شود. در این مرحله نمونه‌ها از اولتراسونیک خارج و پوشش فویل آن حذف شد و در دستگاه سانتریفوژ یخچال‌دار با دمای صفر درجه سلسیوس به‌مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه قرار گرفتند (جهت جدا کردن فاز مایع از جامد). فاز رویی برداشته و به درون میکروتیوب جدید انتقال داده شد و به آن اِن-هگزان (هم‌حجم فاز رویی) اضافه شد (Gholami *et al.*, 2018). نمونه‌ها به‌مدت ۱۰ تا ۱۵ ثانیه ورتکس شدند و مجدداً به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه در دمای صفر درجه سلسیوس سانتریفیوژ شدند (اِن-هگزان یک حلال غیر قطبی است که ترکیبات غیر قطبی مانند کلروفیل، پروتئین و چربی‌های موجود در نمونه که غیر قطبی هستند را در خود حل و از ترکیبات پلی‌فنولی جدا می‌کند). در این مرحله یک محلول دو فازه تشکیل شد که فاز رویی شامل ترکیبات مزاحم هگزانی و فاز زیری پلی‌فنول‌ها بودند. سپس با سرنگ، پلی‌فنول قسمت زیرین را کشیده و به نوک سرنگ صافی

1- 2,2-diphenylpicrylhydrazyl

سرسرنگی زده شد تا کاملاً ناخالصی‌های آن گرفته شود (Justesen *et al.*, 1998). نمونه‌ها تا زمان انتقال به ظروف شیشه‌ای مخصوص دستگاه HPLC و تزریق به محفظه دستگاه، در یخچال نگهداری شدند. برای جداسازی و اندازه‌گیری میزان پلی‌فنول‌ها از دستگاه HPLC به مدل Agilent HPLC 1200 series استفاده شد. جهت شناسایی میزان فنولیک‌اسیدها در نمونه‌ها، مقدار ۲۰ میکرولیتر از عصاره هر نمونه برداشته شد و به‌دستگاه تزریق گردید. جهت شناسایی و محاسبه درصد نسبی این ترکیبات، نمونه‌های استاندارد هر یک از فنولیک‌اسیدها در غلظت‌های مناسب (صفر تا ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام) ساخته و به دستگاه تزریق شد و غلظت فنولیک‌اسیدهای موجود در هر نمونه بر اساس منحنی استاندارد رسم شده محاسبه گردید.

این پژوهش به صورت آزمایش فاکتوریل (فاکتور اول غلظت و فاکتور دوم گیاه) در قالب طرح کاملاً تصادفی به صورت جداگانه بر روی دو بذر سلمه‌تره و پنیرک انجام شد. 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 ۵ درصد انجام شد. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel 2013 استفاده شد.

نتایج و بحث

خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک مناطق جمع‌آوری گیاهان مورد مطالعه اندازه‌گیری و در جدول ۲ گزارش گردید. آنالیز خاک نشان داد که مناطق رویش گیاهان بادمجان وحشی و سنا بومی دارای بافت شنی لومی و گیاهان اسطوخودوس افراشته و زامور دارای بافت لومی بودند. همچنین میزان EC خاک در مناطق ۴ گانه برای بادمجان وحشی، اسطوخودوس افراشته، سنا بومی و زامور به ترتیب برابر با ۲/۹۷، ۱/۸۸، ۱/۸۸ و ۵/۱۷ دسی‌زیمنس بر متر بود که نشان می‌دهد گیاه زامور تحمل بالاتری به میزان EC خاک دارد (جدول ۲).

نتایج این پژوهش نشان داد در بین گیاهان مورد مطالعه بالاترین میزان فنول کل (با میانگین ۳/۰۳ میلی‌گرم گالیک اسید در ۱۰۰ گرم وزن خشک) مربوط به گیاه زامور جمع‌آوری شده در کیلومتر ۳ جاده گله‌دار می‌باشد. همچنین پایین‌ترین میزان فنول کل در گیاه سنا بومی جمع‌آوری شده در منطقه کاکی بود. بین میزان فنول کل در بادمجان وحشی و اسطوخودوس افراشته اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (شکل ۱-A). گیاهان اسطوخودوس افراشته برداشت شده از منطقه گلوگاه دارای بالاترین میزان فلاونوئید کل (با میانگین ۶/۹۲ میلی‌گرم کوئرستین در ۱۰۰ گرم وزن خشک) می‌باشند. پس از اسطوخودوس افراشته، بالاترین میزان فلاونوئید کل در گیاه زامور برداشت شده از کیلومتر ۳ جاده گله‌دار حاصل گردید. در این پژوهش کم‌ترین محتوای فلاونوئید کل مربوط به بادمجان وحشی (با میانگین ۱/۹۱ میلی‌گرم کوئرستین در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب میوه) بود (شکل ۱-B). پایین‌ترین و بالاترین میزان فلاوون و فلاونول به‌ترتیب با میانگین‌های ۰/۳۷ و ۲/۷۹ میلی‌گرم کوئرستین در ۱۰۰ گرم وزن خشک مربوط به گیاهان سنا بومی و زامور بود (شکل ۱-C). نتایج این پژوهش نشان داد میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گیاهان زامور، اسطوخودوس افراشته و بادمجان وحشی به‌ترتیب برابر با ۷۷، ۵۷ و ۳۵ درصد است. گیاهان سنا بومی جمع‌آوری شده از منطقه کاکی دارای پایین‌ترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی بود (شکل ۱-D).

جدول ۱- خصوصیات اکولوژیکی مناطق مورد بررسی بادمجان وحشی، اسطوخودوس افراشته، سنا بومی و زامور در استان بوشهر

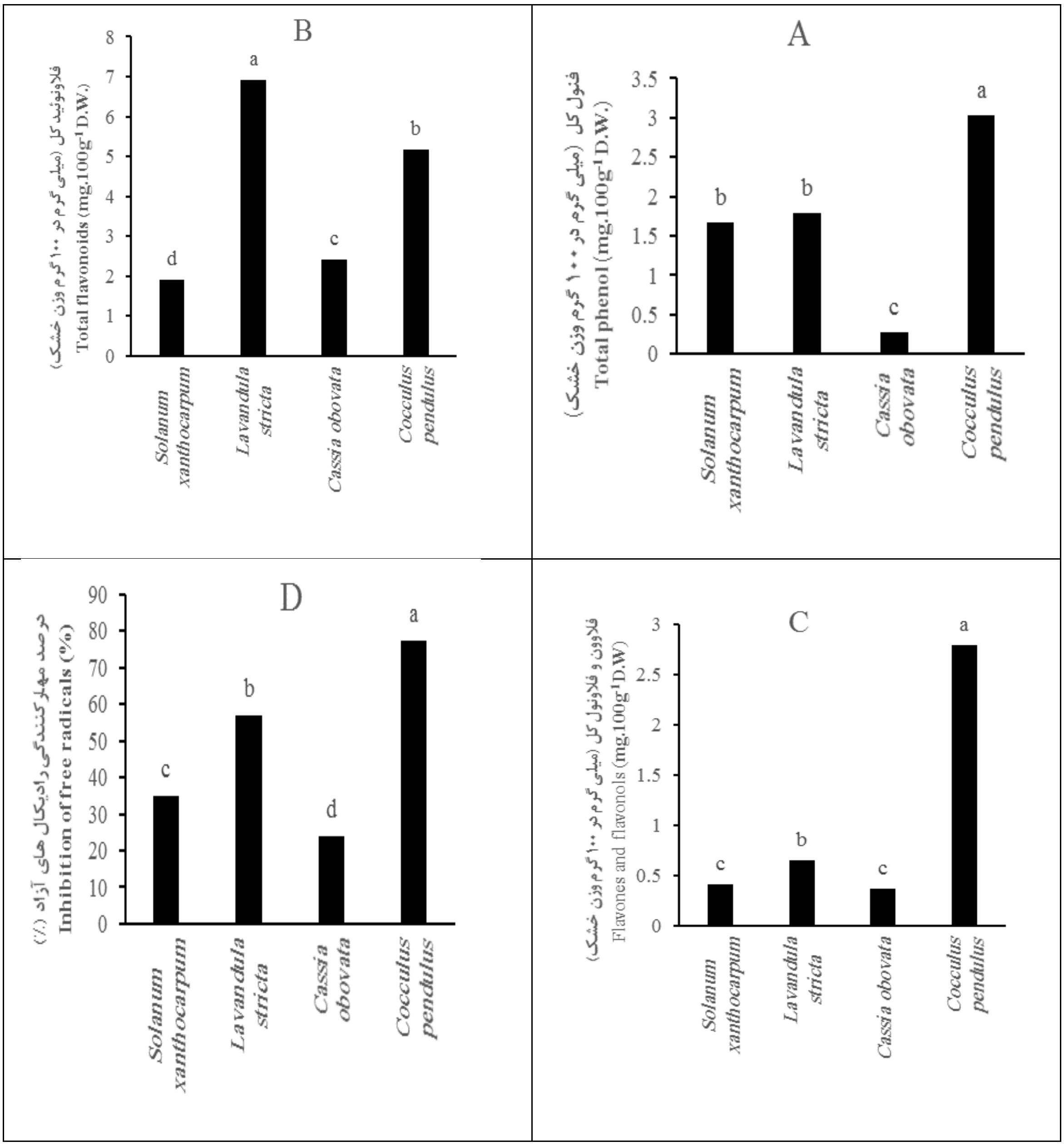
Table 1- Ecological characteristics of the studied areas for *Solanum xanthocarpum*, *Lavandula stricta*, *Cassia obovata* and *Cocculus pendulus* in Bushehr Province

گیاه Plant	استان - شهرستان Province - City	منطقه جمع‌آوری Collection area	طول جغرافیایی Longitude (UTM)	عرض جغرافیایی Latitude (UTM)	ارتفاع از سطح دریا Elevation above sea level (m)
بادمجان وحشی *Solanum xanthocarpum*	بوشهر-کنگان Bushehr-Kangan	بندر سیراف Bandar Siraf	634498 E	3059758 N	8
اسطوخودوس افراشته *Lavandula stricta*	بوشهر-کنگان Bushehr-Kangan	گلوگاه – جاده گله‌دار Galogah - Galehdar road	644728 E	3056094 N	25
سنا بومی *Cassia obovata*	بوشهر-دشتی Bushehr-Dashti	کاکی Kaki	552086 E	3136498 N	45
زامور *Cocculus pendulus*	بوشهر-کنگان Bushehr-Kangan	کیلومتر ۳ جاده گله‌دار 3 km of Galehdar road	645555 E	3058146 N	150

جدول ۲- خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک رویشگاه‌های بادمجان وحشی، اسطوخودوس افراشته، سنا بومی و زامور در مناطق چهارگانه استان بوشهر

Table 2- Soil physicochemical properties of *Solanum xanthocarpum*, *Lavandula stricta*, *Cassia obovata* and *Cocculus pendulus* in the four regions of Bushehr Province

گیاه plant	عمق Depth (cm)	هدایت الکتریکی EC ($dS.m^{-1}$)	pH	ماده آلی OM (%)	نیتروژن N (%)	فسفر P	پتاسیم K	منگنز Mn	روی Zn	مس Cu	آهن Fe	رس Clay (%)	سیلت Silt (%)	شن Sand (%)	بافت خاک Soil texture
						($mg.Kg^{-1}$)									
بادمجان وحشی *Solanum xanthocarpum*	0-30	2.97	7.54	1.7	0.043	11	67.2	7.55	14.06	0.93	4.06	9	26	65	شنی لومی Sandy Loam
اسطوخودوس افراشته *Lavandula stricta*	0-30	1.88	7.29	0.34	0.062	24	109.2	16.03	1.83	0.86	3.92	20	28	52	لومی Loam
سنا بومی *Cassia obovata*	0-30	1.88	7.9	Very low	1.198	2	26.4	3.83	3.67	0.36	4.77	14	6	80	شنی لومی Sandy Loam
زامور *Cocculus pendulus*	0-30	5.17	7.61	Very low	0.075	Very low	805.2	60.74	9.25	0.96	6.29	18	30	52	لومی Loam



شکل ۱- میزان فنول کل (A)، فلاونوئید کل (B)، فلاوون و فلاونول کل (C) و درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد (D) گیاهان بادمجان وحشی، اسطوخودوس‌افراشته، سنا بومی و زامور در مناطق مورد مطالعه استان بوشهر

Figure 1- Total phenol (A), total flavonoids (B), total flavones and flavonols (C) and inhibiation of free radical (D) of *Solanum xanthocarpum*, *Lavandula stricta*, *Cassia obovata* and *Cocculus pendulus* in the study areas of Bushehr Province

اسیدهای فنولی مورد ارزیابی در این آزمایش شامل سیناپیک اسید، گالیک اسید، کاتچین، کافئیک اسید، کلروژنیک اسید، کوئرستین، پی‌کوماریک اسید، کومارین، کارواکرول، وانیلین، ترانس فرولیک اسید، هسپریدین، الاژیک اسید، اوژنول، هسپریتین، رزمارینیک اسید و تیمول بود. نتایج این بررسی نشان داد گیاهان اسطوخودوس افراشته برداشت شده از منطقه گلوگاه، محتوی پی‌کوماریک‌اسید (با میانگین ۰/۵۶۵ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) و الاژیک اسید (با میانگین ۱/۲۸ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) می‌باشند (جدول ۳). نتایج این پژوهش نشان داد در بین اسیدهای فنولی مورد ارزیابی، اسیدهای فنولی کاتچین و پی‌کوماریک اسید هر کدام به‌ترتیب با میانگین‌های ۰/۲۶۲ و ۰/۱۶۳ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک در گیاهان زامور جمع‌آوری شده در کیلومتر ۳ جاده گله‌دار مشاهده می‌شود (جدول ۳). همچنین آنالیز عصاره متانولی گیاه *Cassia obovata* جمع‌آوری شده از منطقه کاکی نشان داد که این

گیاه به‌طور متوسط محتوی ۰/۹۱۵ میلی‌گرم الاژیک اسید به ازای یک گرم وزن خشک پیکره رویشی می‌باشد. سایر اسیدهای فنولی مورد ارزیابی در آزمایش، در عصاره این گیاه شناسایی نشدند (جدول ۳). نتایج این پژوهش نشان داد از بین اسیدهای فنولی مورد ارزیابی، کافئیک اسید، کلروژنیک اسید، پی‌کوماریک اسید، وانیلین و هسپریدین در آب میوه گیاه شناسایی شدند. در بین اسیدهای فنولی شناسایی شده، کلروژنیک اسید با میانگین ۴۵۷ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب میوه، ترکیب غالب بود. کافئیک اسید، وانیلین، هسپریدین و پی‌کوماریک اسید به‌ترتیب با میانگین‌های ۱۱۱، ۲۰/۵۲، ۷/۶۴ و ۳/۸۵ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب میوه، پروفایل ترکیبات فنولی آب میوه را تشکیل دادند (جدول ۳).

جدول ۳- غلظت ترکیبات شناسایی شده در بادمجان وحشی، اسطوخودوس‌افراشته، سنا بومی و زامور با استفاده از HPLC

Table 3- Concentrations of identified compounds in *Solanum xanthocarpum, Lavandula stricta, Cassia obovata* and *Cocculus pendulus* using HPLC

ردیف No.	شاخص بازداری Retention index (RI)	نام ترکیب Composition name	زامور *Cocculus pendulus*	سنا بومی *Cassia obovata*	اسطوخودوس افراشته *Lavandula stricta*	بادمجان وحشی *Solanum xanthocarpum*
			mg.100g^{-1} DW			mg.100cc juice fruit^{-1}
1	16.5	Sinapic acid	-	-	-	-
2	3.3	Gallic acid	-	-	-	-
3	8.3	Catechin	0.262	-	-	-
4	11.6	Caffeic acid	-	-	-	111
5	10.5	Chloregenic acid	-	-	-	453
6	21.6	Quercetin	-	-	-	-
7	15.6	p-Coumaric acid	0.163	-	0.565	3.85
8	17.4	Coumarin	-	-	-	-
9	28.4	Carvacrol	-	-	-	-
10	13.5	Vanilin	-	-	-	20.52
11	16.3	Trans-ferulic acid	-	-	-	-
12	18.5	Hesperedin	-	-	-	7.64
13	19.02	Ellagic acid	-	0.915	1.28	-
14	23.7	Eugenol	-	-	-	-
15	22.4	Hesperetin	-	-	-	-
16	19.2	Rosmarinic acid	-	-	-	-
17	28.9	Thymol	-	-	-	-

در این مطالعه، اثر غلظت‌های مختلف عصاره الکلی اسطوخودوس افراشته، سنا بومی، زامور و بادمجان وحشی بر خصوصیات جوانه‌زنی، شاخص آللوپاتی و برخی خصوصیات مورفولوژیکی علف هرز پنیرک و سلمه‌تره مورد بررسی قرار گرفت. نتایج تجزیه واریانس نشان داد، برهم‌کنش نوع عصاره گیاه و غلظت آن تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد بر درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه و شاخص آللوپاتی گیاه پنیرک دارد. با به کارگیری عصاره‌های الکلی گیاهان مورد مطالعه و افزایش غلظت از ۰ تا ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر، میانگین درصد جوانه‌زنی پنیرک به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. بیشترین اثر بازدارندگی بر جوانه‌زنی بذور پنیرک مربوط به غلظت ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر عصاره‌های زامور و بادمجان وحشی بود، به‌نحوی که به‌طور کامل جوانه‌زنی را متوقف کردند. در صورتی که عصاره‌های سنا بومی و اسطوخودوس افراشته در غلظت ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر، جوانه‌زنی را متوقف نکردند؛ با این حال اختلاف معنی‌داری از نظر آماری بین کاربرد غلظت ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر عصاره سنا بومی و عصاره‌های زامور و بادمجان وحشی وجود نداشت (شکل ۲-A).

در این پژوهش، به‌تدریج با افزایش غلظت‌های عصاره مورد استفاده، سرعت جوانه‌زنی بذور نیز به طور معنی‌داری کاهش یافت (شکل ۲-B). عصاره‌های به‌کار رفته دارای اثرات معنی‌دار و قابل توجهی بر سرعت جوانه‌زنی بذور پنیرک بودند. غلظت ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر عصاره‌های زامور و بادمجان وحشی، سرعت جوانه‌زنی بذور پنیرک را به صفر رساندند و بهترین اثر را نشان دادند؛ در صورتی که عصاره‌های سنا بومی و اسطوخودوس افراشته در غلظت ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر، سرعت جوانه‌زنی بذور را به صفر نرساندند و اختلاف معنی‌داری را با عصاره‌های زامور و بادمجان

وحشی در این غلظت نشان دادند. در بین عصاره گیاهان مورد مطالعه، عصاره الکلی اسطوخودوس افراشته کمترین اثر را در کاهش سرعت جوانه‌زنی بذور پنیرک از خود نشان داد (شکل ۲-B).

با افزایش غلظت عصاره الکلی گیاهان مورد مطالعه، از رشد ریشه‌چه پنیرک به‌طور معنی‌داری کاسته شد. کمترین طول ریشه‌چه (صفر سانتی‌متر) مربوط به عصاره‌های زامور و بادمجان وحشی در غلظت ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر بود. با این حال بیشترین طول ریشه‌چه با میانگین ۲/۶۴ سانتی‌متر پس از اعمال تیمار شاهد حاصل گردید (شکل ۲-C). طول ساقه‌چه پنیرک نیز به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر عصاره‌های به‌کار گرفته شده و غلظت‌های مختلف قرار گرفت، به‌طوری که با به کارگیری عصاره‌های زامور و بادمجان وحشی در غلظت ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر، طول ساقه‌چه به صفر رسید. همچنین نتایج نشان داد اختلاف آماری معنی‌داری بین کاربرد غلظت ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر عصاره الکلی سنا بومی و اسطوخودوس افراشته وجود دارد، به‌نحوی که گیاهچه‌های پنیرک پس از اعمال عصاره‌های الکلی اسطوخودوس افراشته، دارای ساقه‌چه بلندتری نسبت به عصاره الکلی سنا بومی بودند (شکل ۲-D).

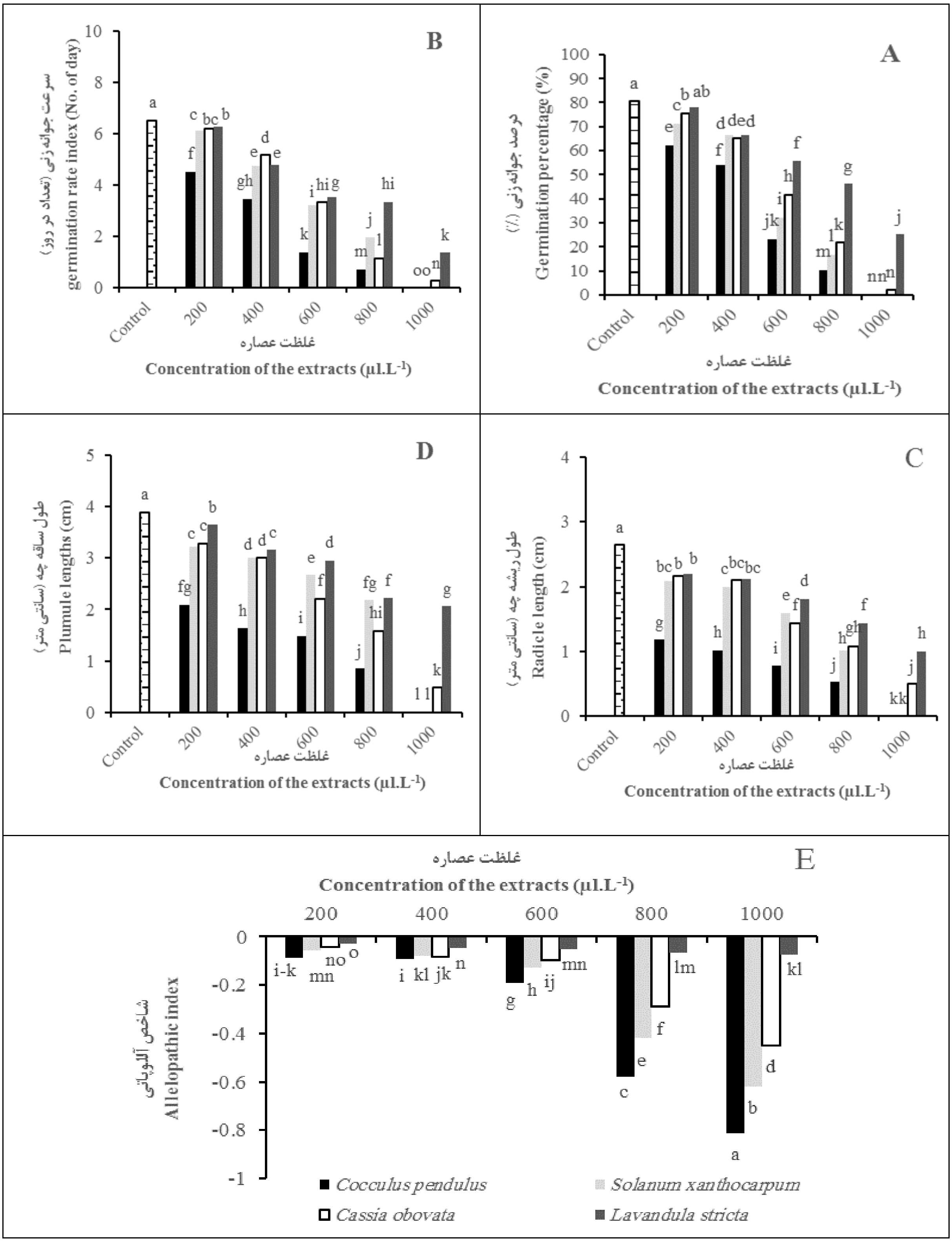
به طور کلی با افزایش غلظت عصاره از ۰ تا ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر، شاخص آللوپاتی در مورد همه گیاهان منفی‌تر شد (شکل ۲-E). کمترین (منفی‌ترین) شاخص آللوپاتی در غلظت‌های ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر عصاره زامور و پس از آن بادمجان وحشی مشاهده شد که بیشترین اثر بازدارندگی را بر رشد و جوانه‌زنی بذور پنیرک داشتند. شاخص آللوپاتی در غلظت ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر عصاره‌های زامور و بادمجان وحشی به ترتیب برابر با ۰/۸۱- و ۰/۶۲- بود که اختلاف معنی‌داری از نظر آماری بین آن‌ها مشاهده گردید (شکل ۲-E). افزون بر این، نتایج نشان داد کمترین اثر بازدارندگی جوانه‌زنی و رشد بذور پنیرک (شاخص آللوپاتی ۰/۰۳۱-)، پس از کاربرد ۲۰۰ میکرولیتر در لیتر عصاره اسطوخودوس افراشته مشاهده گردید (شکل ۲-E).

نتایج تجزیه واریانس نشان داد، برهم‌کنش نوع عصاره گیاه و غلظت آن تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد بر درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه و شاخص آللوپاتی گیاه سلمه‌تره دارد. با به‌کارگیری عصاره‌های الکلی گیاهان مورد مطالعه و افزایش غلظت از ۰ تا ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر، میانگین درصد جوانه‌زنی بذور سلمه‌تره به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (شکل ۳-A). بیشترین اثر بازدارندگی بر روی جوانه‌زنی بذور سلمه‌تره پس از کاربرد ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر عصاره بادمجان وحشی حاصل گردید؛ به‌نحوی که پس از کاربرد آن، جوانه‌زنی به طور معنی‌داری (تا ۷/۷۵ درصد) کاهش یافت. در این مطالعه، بالاترین درصد جوانه‌زنی (۹۶/۶۳ درصد) مربوط به تیمار شاهد (عدم استفاده از عصاره‌ها) بود (شکل ۳-A).

یافته‌های این پژوهش نشان داد، به‌تدریج با افزایش غلظت‌های عصاره مورد استفاده، سرعت جوانه‌زنی بذور سلمه‌تره نیز به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد (شکل ۳-B). غلظت ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر عصاره زامور، سرعت جوانه‌زنی بذور پنیرک را به‌طور معنی‌داری (۱/۰۹ بذر در روز) کاهش داد. در بین عصاره‌های مورد استفاده، زامور، بادمجان وحشی، سنا بومی و اسطوخودوس افراشته به‌ترتیب بالاترین اثر را در کاهش سرعت جوانه‌زنی بذور سلمه‌تره نشان دادند (شکل ۳-B). همچنین بذرهایی که تیمار نشده بودند (شاهد)، بالاترین میانگین سرعت جوانه‌زنی (۹/۵۹ بذر در روز) را نشان دادند (شکل ۳-B).

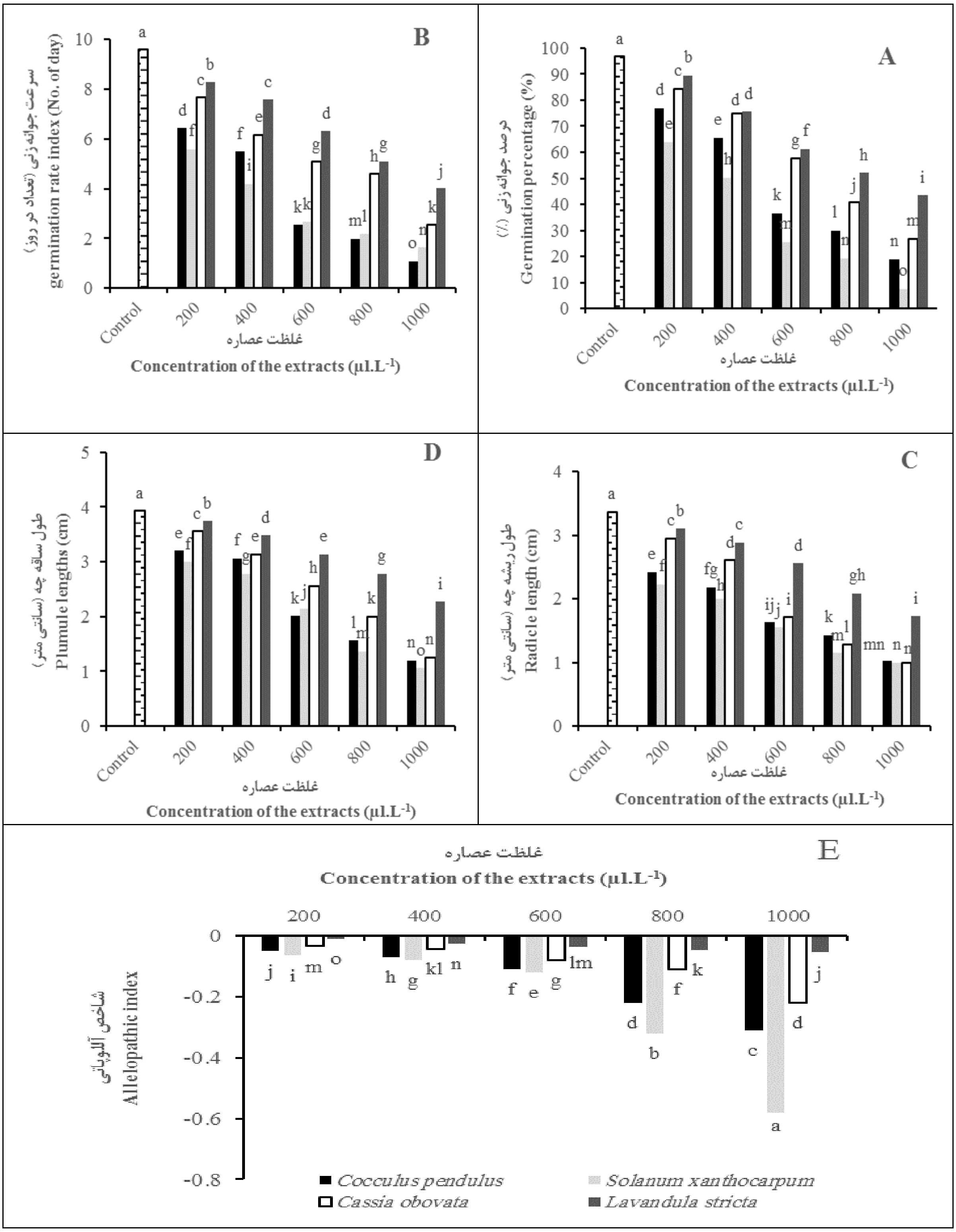
با افزایش غلظت عصاره الکلی گیاهان مورد مطالعه، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه سلمه‌تره به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. بیشترین طول ریشه‌چه با میانگین ۳/۷۳ سانتی‌متر پس از کاربرد تیمار شاهد به‌دست آمد و کمترین طول ریشه‌چه با میانگین‌های ۱، ۱ و ۱/۰۳ سانتی‌متر به‌ترتیب مربوط به کاربرد تیمارهای ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر بادمجان وحشی، سنا بومی و زامور بود و اختلاف معنی‌داری از نظر آماری بین آن‌ها مشاهده نشد (شکل ۳-C). با به کارگیری غلظت ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر عصاره بادمجان وحشی، طول ساقه‌چه به ۱/۰۶ سانتی‌متر رسید. همچنین نتایج نشان داد اختلاف آماری معنی‌داری بین کاربرد غلظت ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر عصاره الکلی سنا بومی و زامور وجود ندارد. با این حال، عصاره الکلی اسطوخودوس افراشته کمترین اثر در کاهش طول ساقه‌چه سلمه‌تره داشت (شکل ۳-D).

با افزایش غلظت عصاره از ۰ تا ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر روی بذور سلمه‌تره، شاخص آللوپاتی در مورد همه گیاهان کاهش می‌یابد. کمترین (منفی‌ترین) شاخص آللوپاتی در غلظت ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر عصاره بادمجان وحشی مشاهده شد که بیشترین اثر بازدارندگی (شاخص آللوپاتی ۰/۵۸-) را بر رشد و جوانه‌زنی بذور سلمه‌تره داشت. همچنین نتایج نشان داد کمترین اثر بازدارندگی جوانه‌زنی و رشد بذور سلمه‌تره (شاخص آللوپاتی ۰/۰۱۰-)، پس از کاربرد ۲۰۰ میکرولیتر در لیتر عصاره اسطوخودوس افراشته مشاهده گردید (شکل ۳-E).



شکل ۲- اثر غلظت‌های مختلف عصاره الکلی زامور، سنا بومی، اسطوخودوس افراشته و بادمجان وحشی بر درصدجوانه‌زنی (A)، سرعت جوانه‌زنی (B)، طول ریشه‌چه (C)، طول ساقه‌چه (D) و شاخص آللوپاتی (E) پنیرک

Figure 2- The effect of different concentrations of alcoholic extract of *Cocculus pendulus*, *Lavandula stricta*, *Cassia obovata* and *Solanum xanthocarpum* on germination percentage (A), germination rate index (B), radicle length (C), plumule length (D) and allelopathic index (E) of *Malva sylvestris* (DMRT, *$p\leq0.05$*)



شکل ۳- اثر غلظت‌های مختلف عصاره الکلی زامور، سنا بومی، اسطوخودوس افراشته و بادمجان وحشی بر درصدجوانه‌زنی (A)، سرعت جوانه‌زنی (B)، طول ریشه‌چه (C)، طول ساقه‌چه (D) و شاخص آللوپاتی (E) سلمه‌تره

Figure 3- The effect of different concentrations of alcoholic extract of *Cocculus pendulus*, *Lavandula stricta*, *Cassia obovata* and *Solanum xanthocarpum* on germination percentage (A), germination rate index (B), radicle length (C), plumule length (D) and allelopathic index (E) of *Chenopodium album* (DMRT, $p \leq 0.05$)

به‌دلیل اهمیت فعالیت آنتی‌اکسیدانی در درمان بیماری‌های مختلف، فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های حاصل از گیاهان سنا بومی، زامور، بادمجان وحشی و اسطوخودوس افراشته، مورد بررسی قرار گرفت. فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی عصاره‌های گیاهی، اساس کاربرد وسیع آن‌ها در داروسازی، پزشکی و درمان‌های طبیعی است (Abiy et al., 2005). تنوع گسترده‌ای از مولکول‌های آنتی‌اکسیدانی مانند ترکیبات فنولی (اسیدهای فنولی، فلاونوئیدها، کوئینون‌ها و تانن‌ها)، توکوفرول‌ها، کارتنوئیدها و اسیدآسکوربیک در گیاهان حضور دارند. این آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در بخش‌های مختلف گیاه مانند چوب، پوست، ساقه، میوه، برگ، ریشه، گل، دانه گرده و بذر توزیع شده‌اند (Chon et al., 2005). نتایج این مطالعه نشان داد میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی به‌ترتیب در گیاهان زامور، اسطوخودوس افراشته و بادمجان وحشی به ترتیب برابر با ۷۷، ۵۷ و ۳۵ درصد است. گیاهان سنا بومی جمع‌آوری شده از منطقه کاکی دارای پایین‌ترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی بود. از این رو عصاره گیاه زامور می‌تواند به‌عنوان یک منبع آنتی‌اکسیدان طبیعی در صنایع مرتبط مورد استفاده قرار گیرد. در بین گیاهان مورد مطالعه بالاترین و پایین‌ترین میزان فنول کل به‌ترتیب مربوط به گیاه زامور و سنا بومی بود. با این حال بالاترین میزان فلاونوئید کل متعلق به گیاهان اسطوخودوس افراشته برداشت شده از منطقه گلوگاه بود. نتایج این پژوهش نشان داد از بین اسیدهای فنولی مورد ارزیابی، کافئیک اسید، کلروژنیک اسید، پی کوماریک اسید، وانیلین و هسپریدین در آب میوه بادمجان وحشی شناسایی شدند. در بین اسیدهای فنولی شناسایی شده، کلروژنیک اسید با میانگین ۴۵۷ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب میوه، ترکیب غالب بود. نتایج این بررسی نشان داد گیاهان اسطوخودوس افراشته برداشت شده از منطقه گلوگاه، محتوی پی کوماریک اسید و الاژیک اسید می‌باشند. در بین اسیدهای فنولی مورد ارزیابی، اسیدهای فنولی کاتچین و پی کوماریک اسید هر کدام به‌ترتیب با میانگین‌های ۰/۲۶۲ و ۰/۱۶۳ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک در گیاهان زامور جمع‌آوری شده در کیلومتر ۳ جاده گله‌دار مشاهده شدند. همچنین آنالیز عصاره متانولی گیاه سنا بومی جمع‌آوری شده از منطقه کاکی نشان داد که این گیاه به طور متوسط محتوی ۰/۹۱۵ میلی‌گرم الاژیک اسید به ازای یک گرم وزن خشک پیکره رویشی می‌باشد. از این رو این گیاه می‌تواند منشأ مهمی جهت استخراج الاژیک اسید باشد.

تولید آللوکمیکال‌ها در گیاهان توسط فاکتورهای زنده و غیر زنده تعیین می‌گردد (Batish et al., 2012). منابع تولید آللوکمیکال‌ها در محیط گیاه زراعی شامل میکروارگانیزم‌ها، علف‌های هرز معین، گیاهان قبلی یا کنونی است. میکروارگانیزم‌ها، علف‌های هرز یا گیاهان زراعی تحت تأثیر این ترکیبات قرار می‌گیرند (Macías et al., 2004). بر اساس نتایج به‌دست آمده، عصاره گیاهان مورد مطالعه دارای اثرات آللوپاتی بوده و باعث کاهش درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه گردیده است. در واقع کلیه صفات ارزیابی شده تحت تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره‌های مورد استفاده قرار گرفت. در این بین، به نظر می‌رسد عصاره زامور و بادمجان وحشی دارای اثرات آللوپاتی به نسبت قوی‌تری نسبت به سنا بومی و اسطوخودوس افراشته باشد. ممانعت از تکثیر سلولی مریستم‌های ریشه به‌عنوان یکی از دلایل ممانعت از رشد فرض شده است (Kaur et al., 2010). برخی از آللوکمیکال‌ها می‌توانند به‌طور غیرمستقیم باعث مرگ سلول‌های ریشه از طریق تسهیل تولید گونه‌های فعال اکسیژن شده که این‌ها نیز ممکن است در نقش مولکول‌های پیام‌رسان سبب تغییر در تعادل هورمونی در طی جوانه‌زنی بذر و رشد گیاه شوند (Golisz et al., 2008). ممانعت از جوانه‌زنی بذور به اختلال در تنفس میتوکندریایی و فعالیت آنزیم‌های متابولیکی دخیل در گلیکولیز و مسیر پنتوز فسفات اکسیداتیو نسبت داده شده است (Omezzine et al., 2011). نتایج مشابهی ازکاهش درصد جوانه‌زنی و شاخص‌های رشدی از عصاره مرزه روی بذور چاودار (Taban et al., 2013) و عصاره اندام هوایی آنغوزه روی بارهنگ (Samaneh et al., 2014) گزارش شده است.

نتایج این مطالعه نشان داد با افزایش غلظت عصاره‌های مصرفی، درصد و سرعت جوانه‌زنی بذور نیز به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد. بیشترین اثر بازدارندگی روی جوانه‌زنی بذور پنیرک مربوط به غلظت ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر عصاره‌های زامور و بادمجان وحشی بود، به‌نحوی که به‌طور کامل جوانه‌زنی را متوقف کردند. همچنین بیشترین اثر بازدارندگی روی جوانه‌زنی بذور سلمه‌تره پس از کاربرد ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر عصاره بادمجان وحشی حاصل گردید؛ به‌نحوی که پس از کاربرد آن، جوانه‌زنی به‌طور معنی‌داری (تا ۷/۷۵ درصد) کاهش یافت. توقف در جوانه‌زنی ممکن است به تغییر فعالیت آنزیم‌هایی که بر انتقال ترکیبات ذخیره‌ای در طی جوانه‌زنی اثر می‌گذارد، نسبت داده شود. این امر می‌تواند منجر به کمبود مستمر انرژی متابولیک گردد (Yarnia et al., 2011).

گزارش شده است که آللوکمیکال‌ها به‌طور احتمالی روی تحریک هورمون‌های جوانه‌زنی مانند جیبرلین یا فعالیت آنزیم‌های ویژه از جمله آمیلاز و پروتئاز که برای جوانه‌زنی بذر ضروری هستند اثر می‌گذارند، بنابراین کاهش درصد جوانه‌زنی در بذور تیمار شده با آللوکمیکال‌ها دور از انتظار نیست. همچنین گزارش شده است که بازدارندگی جوانه‌زنی بذر در اثر فعالیت آللوکمیکال‌ها از راه بازدارندگی هیدرولیز عناصر غذایی ذخیره شده و تقسیم سلولی انجام گردیده و موجب کاهش شدیدی در رشد ریشه‌چه و ساقه‌چه خواهند شد (Nasr Isfahan and Shariati, 2007). رمضانی و همکاران (Ramezani

et al., 2008) در بررسی اثرات آللوپاتیک اسانس رزماری، اکالیپتوس، سرو لاوسن و سدر سفید بر جوانه‌زنی ۳ گونه علف هرز داتوره، خرفه و تاج خروس بیان کردند که وزن‌تر و وزن خشک در اثر افزایش غلظت مواد آللوپاتیک به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد. کاربرد عصاره برگی آفتابگردان باعث کاهش درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه سلمه‌تره گردید (Anjum and Bajwa, 2007).

در این پژوهش، به‌طور کلی واکنش علف‌های هرز مورد بررسی به عصاره‌های گیاهان مورد استفاده متفاوت بود؛ به نحوی که حساسیت پنیرک نسبت به سلمه‌تره بیشتر بود. در پژوهشی که اثر آللوپاتی ارقام مختلف گندم در مراحل برداشت دو برگی و گیاه کامل بر جوانه‌زنی و رشد گیاه‌چه چچم سخت و جو وحشی بررسی شد میزان این تأثیر بین ارقام مختلف گندم و در مراحل مختلف رشد و نمو آن‌ها یکسان نبود. این امر به‌تفاوت غلظت و نوع مواد آللوشیمیایی در مراحل مختلف رشد در ارقام مختلف نسبت داده می‌شود (Kiarostami et al., 2007). همچنین در پژوهشی اثر آللوپاتیک اسانس میوه زنیان، زیره سبز و اندام هوایی رزماری و آویشن شیرازی را در شرایط درون شیشه‌ای بر چندین علف هرز آزمایش کرده و بیان کردند که میزان حساسیت گونه‌های مختلف علف هرز با توجه به نوع گونه علف هرز و همچنین نوع گونه‌هایی که اسانس از آن‌ها تهیه شده متفاوت بود. در این پژوهش اثر آللوپاتیک اسانس آویشن شیرازی از سایر اسانس‌ها بیشتر بود (Ramezani et al., 2008). نتایج مشابهی از اثرات متفاوت اثر عصاره برگ آفتابگردان بر علف هرز تاج خروس و سلمه‌تره (Orouji et al., 2008) گزارش شده است.

نتایج به‌دست آمده در پژوهش حاضر مشخص کرد، در همه آزمایشات انجام شده شاخص آللوپاتی به‌طور عمده کاهش یافت (منفی‌تر شد) و با افزایش غلظت ترکیبات آللوپات شاخص آللوپاتی نیز به‌طور چشمگیری منفی‌تر شد که نشان‌دهنده اثر منفی بیشتر بر روی گیاهان مورد آزمایش بود. در پژوهشی اثر عصاره ریزوم گیاه *Polygonatum odoratum* را بر رشد اولیه گندم، خیار و هویج بررسی و گزارش شد که شاخص آللوپاتی با افزایش میزان غلظت منفی‌تر شد. این مسئله نشان‌دهنده توان ممانعت کنندگی بیشتر عصاره در غلظت‌های بالا می‌باشد (Li et al., 2009).

نتیجه‌گیری

با توجه به اختلافات مشاهده شده در پژوهش حاضر در سطوح مختلف غلظت‌ها در پارامترهای مورد بررسی، می‌توان نتیجه گرفت که حساسیت برخی گونه‌ها به افزایش غلظت آللوکمیکال‌ها بیشتر از برخی دیگر بوده و کاهش رشد قابل توجهی با بیشتر شدن غلظت عصاره، در آن‌ها مشاهده گردیده است؛ بنابراین واکنش مختلف گیاهان می‌تواند به‌دلیل تفاوت آن‌ها در تحمل آللوکمیکال‌ها باشد. تفاوت عصاره‌ها در خواص علف‌کشی (هم از نظر نوع و هم از نظر غلظت) به آن‌ها نوعی خواص انتخابی می‌دهد که می‌توان از آن‌ها در راستای مدیریت علف‌های هرز یک محصول به خصوص استفاده کرد.

منابع

1. Abiy, Y., Derese, S., Midiwo, J.O., Bii, C.C., Heydenreich, M., & Peter, M.G. (2005). Antimicrobial flavonoids from the stem bark of *Erythrina burttii*. *Fitoterapia*, *76*(5), 469-472. https://doi.org/10.1016/j.fitote.2005.04.006
2. Achhireddy, N.R., & Singh, M. (1984). Allelopathic effects of lantana (*Lantana camara*) on milkweedvine (*Morrenia odorata*). *Weed Science*, *32*(6), 757-761. https://doi.org/10.1017/S0043174500059944
3. Anjum, T., & Bajwa R. (2007). The effect of sunflower leaf extracts on *Chenopodium album* in wheat fields in Pakistan. *Crop Protection*, *26*(9), 1390-1394. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2006.11.012
4. Batish, D.R., Singh, H.P., Kaur, M., Kohli, R.K., & Singh, S. (2012). Chemical characterization and phytotoxicity of volatile essential oil from leaves of *Anisomeles indica* (Lamiaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, *41*, 104-109. https://doi.org/10.1016/j.bse.2011.12.017
5. Chon, S.U., Jang, H.G., Kim, D.K., Kim, Y.M., Boo, H.O., & Kim, Y.J. (2005). Allelopathic potential in lettuce (*Lactuca sativa* L.) plants. *Scientia Horticulturae*, *106*(3), 309-317. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2005.04.005
6. Dayan, F.E., Cantrell, C.L., & Duke, S.O. (2009). Natural products in crop protection. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, *17*(12), 4022-4034. https://doi.org/10.1016/j.bmc.2009.01.046
7. Duke, S. O. (2003). Ecophysiological aspects of allelopathy. *Planta*, *217*(4), 529-539.
8. Gholami, H., Saharkhiz, M.J., Raouf Fard, F., Ghani, A., & Nadaf, F. (2018). Humic acid and vermicompost increased bioactive components, antioxidant activity and herb yield of Chicory (*Cichorium intybus* L.). *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *14*, 286-292. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.03.021
9. Golisz, A., Lata, B., Fujii, Y., & Gawronski, S.W. (2008). Allelopathic potential of phytochemicals in various cultivars of buckwheat. *Allelopathy Journal*, *22*(1), 35-45
10. Hartman, H., Kester, D., & Davis, F. (1990). *Plant propagation, principle and practices*. Prentice Hall Imitational Editions. Inc. New Jersey. USA.
11. Hejazi, A. (1999). *Allelopathy (self-poisoning and other poisoning: the interactions of organisms with each other)*.

University of Tehran Press, Tehran, Iran. (In Persian)
12. Jadhav, P. S., Malik, N. G., & Chavan, P. D. (1997). Allelopathic effects of *Ipomoea carnea* subsp. fistulosa on growth of wheat, rice, sorghum and kidney bean. *Allelopathy Journal, 4*(2), 345-348.
13. Jamzad, Z. (2012). *Flora of Iran: Lamiaceae. Tehran: Research Institute of Forests and Rangelands*. Published Tehran, Tehran, Iran. (In Persian)
14. Justesen, U., Knuthsen, P., & Leth, T. (1998). Quantitative analysis of flavonols, flavones, and flavanones in fruits, vegetables and beverages by high-performance liquid chromatography with photo-diode array and mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A, 799*(1-2), 101-110. https://doi.org/10.1016/S0021-9673(97)01061-3
15. Kashfi Bonab, A. R. (2009). Comparative economic advantage of cultivation and trade of medicinal plants in Iran and its value in world markets. *Commercial Surveys, 44*, 67-78. (In Persian)
16. Kaur, S., Singh, H. P., Mittal, S., Batish, D. R., & Kohli, R. K. (2010). Phytotoxic effects of volatile oil from *Artemisia scoparia* against weeds and its possible use as a bioherbicide. *Industrial Crops and Products 32*(1), 54-61. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2010.03.007
17. Kazerooni Monfared, E., Tokasi, S., & Banayan Awal, M. (2013). Study of allelopathic effects of berseem clover (*Trifolium alexandrium*) shoot aqueous extract on germination and initial seedling growth of some weed species. *Iranian Plant Protection Research, 27*(4), 509-512. (In Persian)
18. Kiarostami, Kh., Ilkhanizadeh, M., & Kazem negad, A. (2007). Study on allelopathic potential of wheat (*Triticum aestivum*) against *Hordeum spontaneum* and *Lolium rigidum*. *Iranian Journal of Biology, 20*(2), 214-207. (In Persian with English abstract)
19. Kobayashi, K. (2004). Factors affecting phytotoxic activity of allelochemicals in soil. *Weed Biology and Management, 4*(1), 1-7. https://doi.org/10.1111/j.1445-6664.2003.00112.x
20. Kordali, S., Cakir, A., Ozer, H., Cakmakci, R., Kesdek, M., & Mete, E. (2008). Antifungal, phytotoxic and insecticidal properties of essential oil isolated from Turkish *Origanum acutidens* and its three components, carvacrol, thymol and p-cymene. *Bioresource Technology, 99*(18), 8788-8795. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.04.048
21. Li, X. M., Tian, S. L., Pang, Z. C., Shi, J. Y., Feng, Z. S., & Zhang, Y. M. (2009). Extraction of *Cuminum cyminum* essential oil by combination technology of organic solvent with low boiling point and steam distillation. *Food Chemistry, 115*(3), 1114-1119. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.12.091
22. Macías, F. A., López, A., Varela, R. M., Torres, A., & Molinillo, J. M., (2004). Bioactive apocarotenoids annuionones F and G: structural revision of annuionones A, B and E. *Phytochemistry, 65*(22), 3057-3063. https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2004.08.048
23. Martino, L. D., Mancini, E., Almeida, L. F. R. D., & Feo, V. D. (2010). The antigerminative activity of twenty-seven monoterpenes. *Molecules 15*(9), 6630-6637. https://doi.org/10.3390/molecules15096630
24. Menichini, F., Tundis, R., Bonesi, M., Loizzo, M. R., Conforti, F., Statti, G., Di Cindi, B., Houghton, P. J., & 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. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.086
25. Najafi, N., Gholami, H., Ghaderifar, M., Sanei, M., (2013). Allelopathic effect of water extract of liquorice (*Glycyrrhiza glabra*) on germination and chlorophyll content of maize. *Journal of Novel Applied Sciences*, *2*(4), 1220-1223.
26. Nasr Isfahan, M., & Shariati, M. (2007). The effect of some allelochemicals on seed germination of *Coronilla varia* L. seeds. *American–Eurasian Journal Agricalture Environmental Science*, *2*(5), 534–538.
27. Nourimand, M., Mohsenzadeh, S., Teixeira da Silva, J. A., & Saharkhiz, M. J. (2011). Allelopathic potential of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). *Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology, 5*(1), 54-57.
28. Oke, F., Aslim, B., Ozturk, S., & Altundag, S. (2009). Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Satureja cuneifolia* Ten. *Food Chemistry, 112*(4), 874-879. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.06.061
29. Omezzine, F., Ladhari, A., Rinez, A., & Haouala, R. (2011). Potent herbicidal activity of *Inula crithmoïdes* L. *Scientia Horticulturae*, *130*(4), 853-861. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2011.08.013
30. Orouji, K., Khazaei, H. R., Rashed Mohasel, M. H., Ghorbani, R., & Azizi, M. (2008). Allelopathic effects of sunflower (*Helianthus annuus*) on germination and initial growth of redroot pigweed (*Amaranthus retroflexus*) and common lambsquarter (*Chenopodium Album*). *Iranian Plant Protection Research (Journal of Plant Protection), 22*(2), 119-128. (In Persian with English abstract)
31. Popova, M., Bankova, V., Butovska, D., Petkov, V., Nikolova-Damyanova, B., Sabatini, A. G., Marcazzan, G.L., & Bogdanov, S. (2004). Validated methods for the quantification of biologically active constituents of poplar-type propolis. *Phytochemical Analysis, 15*(4), 235-240. https://doi.org/10.1002/pca.777
32. Raisi, A., Arbabi, M., & Rasoulizadeh, A. (2016). *Cocculus pendulus* (Forsk): An important medicinal plant of Baluchistan, Iran. P.121-128. In The First International and the Third National Conference of Engineering and

Agriculture Management, Environment and Stable Natural Resources, 29 February 2016, Hamedan, Iran. (In Persian with English abstract)

33. Ramezani, S., Saharkhiz, M. J., Ramezani, F., & Fotokian, M. H. (2008). Use of essential oils as bioherbicides. *Journal of Essential Oil Bearing Plants, 11*(3), 319-327. https://doi.org/10.1080/0972060X.2008.10643636
34. Richardson, D. M., Williams, P. A., & Hobbs, R. J. (1994). Pine invasions in the Southern Hemisphere: determinants of spread and invadability. *Journal Biogeogr, 21*, 511–527. https://doi.org/10.2307/2845655
35. Saadatian, B., Ahmadv, G., & Soleymani, F. (2012). Effect of seed priming on summer savory (*Satureja hortensis*) germination characteristics under drought and salinity stresses. *Seed Research (Journal of Seed Science and Technology), 2*(2), 35-44. (In Persian)
36. Samaneh, Z., Kourosh, E., & Morteza, A.S. (2014). Study on allelopathic potential of Asafoetida (*Ferula assa*) medical plant on germination and seedling growth of *Cardaria draba* and *Plantago major*. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, *7*(10), 724-731.
37. Sartavi, K., & Gholamian, F. (2004). Medicinal plants of Bushehr province. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, *20*(2), 213-227. (In Persian with English abstract)
38. Singh, O.M., & Singh, T.P. (2010). Phytochemistry of *Solanum xanthocarpum*: an amazing traditional healer. *Journal of Scientific & Industrial Research*, *69*, 832-740.
39. Sodaeizadeh, H., Rafieiolhossaini, M., & Van Damme, P. (2010). Herbicidal activity of a medicinal plant, *Peganum harmala* L., and decomposition dynamics of its phytotoxins in the soil. *Industrial Crops and Products*, *31*(2), 385-394. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2009.12.006
40. Soltanipour, M.A. (2005). Medicinal plants of the Geno protected area. *Pajouhesh and Sazandegi (In Natural Resources), 18*(3), 27-37.
41. Taban, A., Saharkhiz, M.J., & Hadian, J. (2013). Allelopathic potential of essential oils from four *Satureja* spp. *Biological Agriculture & Horticulture*, *29*(4), 244-257. https://doi.org/10.1080/01448765.2013.830275
42. Vyvyan, J. R. (2002). Allelochemicals as leads for new herbicides and agrochemicals. *Tetrahedron*, *58*, 1631-1636.
43. Wojdyło, A., Oszmiański, J., & 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
44. Yagi, S., El Tigani, S., Ali, M., Elkhidir, I., & Mohammed, A.M. (2013). Chemical constituents and insecticidal activity of *Senna italica* Mill. from the sudan. *International Letters of Chemistry, Physics and Astronomy*, *9*, 146-151. https://doi.org/10.18052/www.scipress.com/ILCPA.14.146
45. Yarnia, M., Benam, M.K., Tabrizi, E.F.M., Nobari, N., & Ahmadzadeh, V. (2011). Effect of planting dates and density in drought stress condition on yield and yield components of *Amaranth* cv. Koniz. *Advances in Environmental Biology*, *5*(6), 1139-1150.
46. Zirak, S., Enteramian, K., & Azimzadeh, M. (2014). Study on allelopathic potential of assa foetida (*Ferula assa*) medical plant on germination and seedling growth of *Cardaria draba* and *Plantago major*. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, *7*, 724-731.

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

CC BY

Research Article
Vol. 37, No. 2, Summer 2023, p. 409-421

The Effect of Chalcone Isomerase Gene Silencing on Pigment Production Pathway in *Petunia hybrida* with RNAi Technology

F. Keykha Akhar[1]*, A.R. Bagheri[2], N. Moshtaghi[3], M. Fakhrfeshani[4]

Received: 12-04-2022 Revised: 03-08-2022 Accepted: 26-09-2022 Available Online: 26-09-2022	**How to cite this article:** Keykha Akhar, F., Bagheri, A.R., Moshtaghi, N., & Fakhrfeshani, M. (2023). The effect of chalcone isomerase gene silencing on pigment production pathway in Petunia hybrida with RNAi technology. *Journal of Horticultural Science*, *37*(2), 409-421. (In Persian with English abstract). http://doi.org/10.22067/jhs.2022.76190.1162

Introduction

Flower color is one of the most significant characteristics in ornamental plant breeding. New varieties of various plants in relation to their flower color have been obtained by monitoring the expression levels of genes involved or regulating the flavonoid and anthocyanin biosynthesis pathway. Flavonoids possess significant and diverse biological functions. They are the major pigments for flowers, fruits, seeds, and leaves. They are natural products that contain a C6-C3-C6 carbon framework and are synthesized by a branched pathway that yields both colored and colorless compounds. The gene encoding chalcone isomerase (CHI) is among the genes and enzymes identified in the flavonoid pathway. This enzyme catalyzes the isomerization of naringenin chalcone into the corresponding flavanone. CHI enzyme belongs to the family of isomerases, specifically the class of intramolecular lyases. Chalcone isomerase has a core 2-layer alpha/beta structure and has attracted much attention recently due to its role in stress response and pigment production. One of the most effective methods of genetic engineering is the reduction of flower pigments by suppression of required enzymes for their biosynthesis. RNA interference (RNAi) has provided the tool for the investigation of genes involved in the production of flower color. Silencing of any gene in the anthocyanin biosynthetic pathway can result in reduced or inhibited anthocyanin production. RNAi technology is an effective gene silencing method and a powerful tool for studying gene function and development of new traits by transformation of viral RNA or hairpin RNA (hpRNA) constructs into plants. The processing of dsRNA into 21-23-nt small interfering RNAs (siRNAs), and the mediators of RNAi, triggers cognate mRNA degradation. The hpRNAi methodology simply requires a transgene construct containing an inversely-repeated sequence of the target gene flanked with a promoter and terminator which effectively function in plants.

Material and Methods

In this research, with the design and construction of chiRNAi, the transformation of the RNAi construct was carried out of Petunia plants. Potted plants of P. hybrida were grown under standard greenhouse conditions (16-17°C night temperature and 21-24°C day temperature and photoperiod 16/8 (light/dark)). The RNAi construct including the 530 bp cds of the chalcone isomerase (*chi*) gene and 741 bp of *pdk* gene as intron between chi sense and antisense were used for transient RNAi-induced silencing. The pBI121-chi530 plasmids were introduced into *A. tumefaciens* strain LBA4404 by electroporation method. Colonies of *A. tumefaciens* carrying the desired plasmid were screened by PCR with specific primers for *chi* gene. RNAi construct co-cultured with petunia's leave. Samples was kept in dark condition for 3 days and then transferred to branch induction media. Samples were investigated for phenotypical changes and chi gene expression by qRT-PCR.

1 and 4- Assistant Professors, Departement of Plant Genetic and Production, Faculty of Agriculture, Jahrom University, Jahrom, Iran
(*- Corresponding Author Email: F.Keykha@jahromu.ac.ir)
2 and 3- Professor and Associate Professor, Departement of Plant Biotechnology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran, respectively.
DOI: 10.22067/jhs.2022.76190.1162

Results and Discussion

Transgenic lines showed a reduced number of pigments and a faded flower color. So that, in purple petunia, was shown 5 phenotypical groups. These groups was indicated different levels of *chi* gene silencing. In pink petunia was seen two groups of phenotypical changes. In these plants, *chi*-RNAi construct was reduced pigment production and so, these plants had faded colors in petals. Also, the *chi* gene expression was reduced in all transgenic lines. Generally, the results of this research showed that RNAi can be used as an efficient method for gene silencing. The application of gene silencing can indicate the gene's function in biosynthesis pathways of various components such as anthocyanins. In addition, the chalcone isomerase gene was identified as one of the effective genes in anthocyanin biosynthesis pathway in Petunia plants that could be involved in the production of color in these plants; hence, chi gene silencing resulted in clear phenotypic alterations in this plant.

Conclusion

In general the concentration of the target mRNA in a particular tissue could be a factor that influences silencing efficiency. At very low levels of gene expression, small amounts of the silencing target, mRNA, could be completely degraded by the RNA-induced silencing complex (RISC), whereas the presence of higher amounts of the target mRNA may result in incomplete silencing, allowing some residual functional mRNA to be translated into the corresponding protein. This research demonstrated the hpRNA construct has been successfully established for floral tissues of P. hybrida. The hpRNA construct was developed for chi-RNAi silencing of one of the key genes in the anthocyanin biosynthetic pathway in Petunia flowers. The silencing of the chi gene is a prototype for the modification of the anthocyanin biosynthetic pathway in Petunia through gene suppression. This strategy could also be useful for rapid functional analysis of other genes involved in flower development.

Keywords: Anthocyanin, Chalcone isomerase, Gene silencing, *Petunia hybrida*, RNAi

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

مقاله پژوهشی
جلد ۳۷، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۲، ص. ۴۲۱-۴۰۹

اثر خاموشی ژن چالکون ایزومراز بر مسیر تولید رنگ در گیاه اطلسی با استفاده از فناوری RNAi

فاطمه کیخا آخر[1*] - عبدالرضا باقری[2] - نسرین مشتاقی[3] - مسعود فخرفشانی[4]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۱/۲۳
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۵/۱۲
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۷/۰۴

چکیده

رنگ گل یکی از مهمترین خصوصیات گیاهان زینتی است که نقش ویژه ای را در فروش این نوع گیاهان ایفا می‌کند. در سال‌های اخیر با استفاده از فناوری‌های نوین از قبیل مهندسی ژنتیک ارقام جدیدی وارد بازار شده است که یکی از موثرترین روش‌های آن، کاهش مقدار رنگدانه‌های داخلی گل بوسیله ممانعت از فعالیت آنزیم‌های ضروری مورد نیاز برای بیوسنتز آن‌ها می‌باشد. روش RNAi یک فناوری نوین خاموشی ژن است که امکان بررسی ژن‌های دخیل در تولید رنگ گل را فراهم کرده است. در این پژوهش، با استفاده از این فناوری نوین، نقش ژن چالکون ایزومراز (*chi*) به عنوان یکی از ژن‌های کلیدی در مسیر بیوسنتزی آنتوسیانین‌ها مورد بررسی قرار گرفت. در این آزمایش سازه RNAi ژن *chi* طراحی شد و به اطلسی‌های با رنگ گل بنفش و صورتی انتقال یافت. لاین‌های تراریخته، تغییرات متنوعی را در رنگ گل نشان دادند و به گروه‌های فنوتیپی متفاوتی تقسیم شدند. این تغییرات بیشتر به صورت کاهش مقدار تجمع رنگدانه‌ها و کمرنگ شدن گل‌ها بود. با بررسی بیان ژن chi، کاهش معنی‌دار بیان این ژن نیز مشاهده شد. بطور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که خاموشی ژن با استفاده از فناوری RNAi می‌تواند روش مناسبی برای کاهش بیان ژن باشد به طوری که با استفاده از این روش می‌توان به نقش ژن‌های مختلف در مسیرهای بیوسنتزی ترکیبات از جمله آنتوسیانین‌ها پی برد. علاوه بر این، ژن چالکون ایزومراز به عنوان یکی از ژن‌های موثر در مسیر بیوسنتزی آنتوسیانین‌ها در گیاه اطلسی شناخته شد که می‌تواند در تولید رنگ در این گیاه نقش داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: آنتوسیانین، اطلسی، چالکون ایزومراز، خاموشی ژن، RNAi

مقدمه

در سال‌های اخیر، صنعت تولید گیاهان زینتی گسترش زیادی یافته است که یکی از دلایل آن، تولید و اصلاح ارقام جدید می‌باشد (Nishihara and Nakatsuka, 2010؛ Chandler and Sanchez, 2012). یکی از الزامات مورد نیاز برای تداوم این صنعت و گسترش آن، ایجاد تنوع در این نوع گیاهان است تا قادر باشد نیاز بازار را تامین نماید (Ahloowalia and Maluszynski, 2001).

مهندسی ژنتیک از طریق دستورزی مسیرهای متابولیکی توانسته است نقش قابل توجهی را در صنعت گل و گیاهان زینتی ایفا نماید بطوریکه با استفاده از روش¬های خاموشی و یا بیش بیان ژن‌های مرتبط، به تولید ارقام جدیدی از رز (*Rosa* sp.) گل سپاسی (*Gentian* sp.) میخک (*Dianthus* sp.) تورنیا (*Torenia fournieri*) با رنگ متفاوت، اطلسی (*Petunia hybrida*) میخک (*Dianthus* sp.) با رایحه و ماندگاری بیشتر و ... کمک شایان توجهی داشته است (Dixone, 2005؛ Voorhuijzen *et al.*, 2020).

رنگ گل یکی از مهمترین صفاتی است که در روش‌های اصلاحی گیاهان زینتی به آن توجه ویژه‌ای شده است (To and Wang, 2006؛ Nishihara and Nakatsuka, 2011). مهم‌ترین عامل تعیین کننده رنگ گل، اجزای سازنده رنگدانه‌ها می‌باشند (Tanaka and Chandler, 2009؛ Keykha *et al.*, 2016a). فلاونوئیدها یکی از مهمترین مسیرهای بیوسنتزی رنگ در گیاهان

۱ و ۴- استادیاران گروه ژنتیک و تولید گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جهرم
(*- نویسنده مسئول: Email: f.keykha@jahromu.ac.ir)
۲ و ۳- به‌ترتیب استاد و دانشیار گروه بیوتکنولوژی گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

DOI: 10.22067/jhs.2022.76190.1162

مختلف می‌باشند. بگونه ای که بسیاری از روش‌های اصلاحی به ویژه مهندسی ژنتیک به شناسایی ژن‌های دخیل در مسیر بیوسنتزی فلاونوئیدها و نقش کارکردی هر یک از آنها در تولید رنگ پرداخته است. ماحصل چنین دستورزی‌هایی تولید ارقام جدیدی از گیاهان می‌باشد. برای مثال در گیاهانی از قبیل اطلسی، رز، میخک و ژربرا نمونه‌های دستورزی شده‌ای شناسایی شده است (Potera, 2007؛ Voorhuijzen *et al*., 2020) که تغییراتی را در مقدار محتوای آنتوسیانین (گروهی از فلاونوئیدها که ترکیبات قرمز، بنفش و آبی تولید می کنند) و کاروتنوئید (گروهی از ایزوپرنوئیدها که رنگ زرد، نارنجی و قرمز تولید می کنند) نشان می‌دهند (Potera, 2007؛ Voorhuijzen *et al*., 2020).

فلاونوئیدها ترکیبات دارای اسکلت ۱۵ کربنی بوده و محلول در آب می‌باشند که در واکوئل‌ها تجمع می‌یابند (Delgado-Vargas *et al*., 2000؛ Tanaka and Ohmiya, 2008). ساده‌ترین راهکار برای تغییر رنگ گل، کاهش مقدار رنگدانه‌های داخلی گل از جمله فلاونوئیدها است که از بیوسنتز آنزیم‌های ضروری ممانعت کرده و از این طریق می‌توان به نقش آن ژن در تولید رنگ دست یافت (Wang *et al*., 2018؛ Nishihara and Nakatsuka, 2011). RNAi یک فناوری قدرتمند است که با استفاده از چند مولکول RNA دو رشته‌ای کوچک (dsRNA) سبب خاموشی بیان ژن در سلول می‌شود و به عنوان روشی آسان و سریع برای تعیین عملکرد ژن در نظر گرفته شده است (Thakur, 2003؛ Kim and Rossi, 2008).

در بین گیاهان زینتی، اطلسی (*Petunia hybrida*) یکی از محبوب‌ترین گیاهان گلدانی است که پتانسیل خوبی را برای صادرات به عنوان یک گیاه گلدانی و یا گیاه زینتی مورد استفاده در فضای سبز شهری در بسیاری از کشورها دارا می‌باشد (Tsuda *et al*., 2004؛ Chen *et al*., 2017). از آنجایی که این گیاه به عنوان گیاه مدل استفاده می شود، توجه بسیاری بر روی این گیاه و شناسایی ژن‌های موثر در مسیرهای متابولیکی مختلف شده است. خصوصیات ظاهری این گیاه از جمله شکل زیبا، گل‌هایی با رنگ جذاب و همچنین مدت زمان طولانی گلدهی، موقعیت ویژه‌ای را برای آن فراهم کرده است، بطوری‌که در لیست گیاهان گلدانی برتر جهان قرار دارد (Park and Chen, 2006؛ Keykha *et al*., 2016b).

لذا با توجه به مطالب ذکر شده از جمله قابلیت روش RNAi در تعیین عملکرد یک ژن از طریق کاهش بیان آن و اهمیت آنزیم چالکون ایزومراز در مسیر بیوسنتزی فلاونوئیدها، این تحقیق با هدف بررسی نقش ژن *chi* در تولید رنگدانه در گیاهان اطلسی بنفش رنگ و صورتی با استفاده از تکنیک RNAi انجام شده است.

مواد و روش‌ها

تهیه مواد گیاهی

بذرگیاهان اطلسی هلندی از شرکت بذر شکوفه اصفهان خریداری شده و در گلدان‌های پلاستیکی در گلخانه با شرایط دمایی ۱۶-۱۷ درجه سانتی‌گراد دمای شب و ۲۴-۲۱ درجه سانتی‌گراد دمای روز و فتوپریود ۱۶ ساعت نور و ۸ ساعت تاریکی رشد یافتند. گیاهان در مرحله ۸-۶ برگی در این آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند.

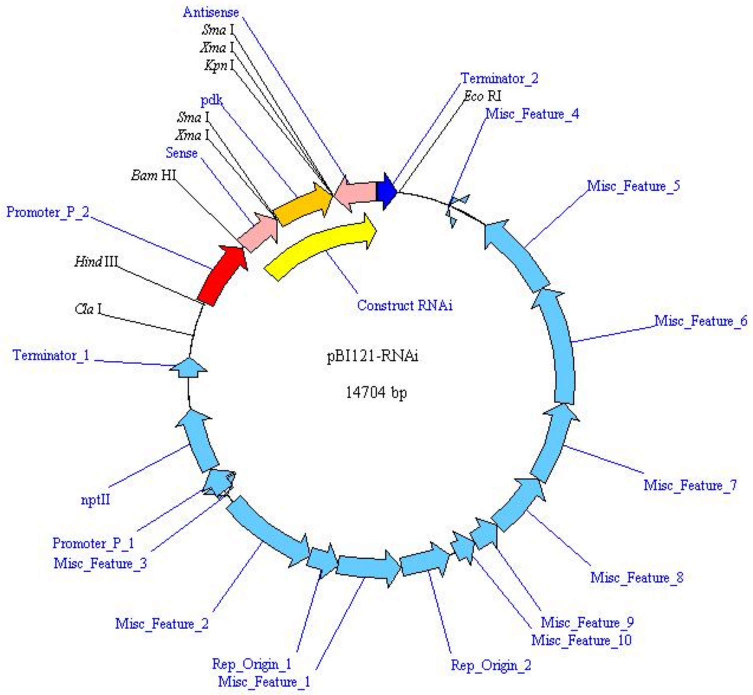
طراحی سازه خاموشی حاوی ژن *chi*

سازه RNAi حاوی قطعه ۵۳۰ جفت باز ناحیه cds توالی mRNA ژن چالکون ایزومراز (*chi*) گیاه اطلسی (نوکلئوتیدهای ۱۹۶۰-۱۴۳۰ با شماره دسترسیX14589) و قطعه ۷۴۱ جفت باز از ژن پیروات دهیدروژناز کیناز (*pdk*) به عنوان اینترون (که بین ناحیه سنس و آنتی سنس ژن *chi* قرار گرفته است)، طراحی و سپس سازه طراحی شده در وکتور pBI121 کلون گردید (شرکت بایونیر، کره جنوبی) (شکل ۱).

به منظور استفاده از سازه خاموشی طراحی شده برای انتقال به گیاه، در مرحله نخست نیاز به تکثیر پلاسمید حاوی توالی ژنی سنتز شده از طریق ترازیزش آن به باکتری *A. tumefaciens* است. با این هدف پلاسمیدهای pBI121 حاوی ژن *chi* با استفاده از روش الکتروپوریشن به باکتری *A. tumefaciens* سویه LBA4404 منتقل شدند (Lin, 1995). کلنی‌هایی از باکتری که حاوی پلاسمیدهای مورد نظر بودند با استفاده از آغازگرهای اختصاصی ژن *chi* و با برنامه PCR شامل دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، دمای ۵۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه با ۳۵ سیکل تکثیر و جداسازی شدند. طراحی آغازگرها به گونه‌ای انجام شد که یک جفت آغازگر ناحیه پیشبر 35S و بخشی از قطعه سنس ژن *chi* را تکثیر می‌کند (sense primer) و جفت آغازگر دوم، بخشی از قطعه آنتی‌سنس ژن *chi* و ناحیه ترمیناتور پلاسمید pBI121 را تکثیر می‌کند (antisense primer). توالی آغازگرها در جدول ۱ آورده شده است.

انتقال سازه خاموشی حاوی ژن *chi* به گیاه اطلسی

جهت تراریختی گیاه اطلسی از روش دیسک برگی و هم‌کشتی با اگروباکتریوم استفاده شد. پس از کشت باکتری و هنگامی که OD_{600} باکتری به ۰/۵-۰/۴ رسید، سوسپانسیون باکتری به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد (دمای ۴ درجه سانتی‌گراد). مایع رویی حذف شده و به پلت باکتریایی موجود در انتهای فالکون، ۵۰ میلی‌لیتر از محیط کشت تلقیح اضافه شد (محیط کشت تلقیح شامل محیط کشت MS مایع حاوی ۵ درصد ساکارز و ۱۰۰ میکرومولار استوسرینگون).



شکل ۱- سازه طراحی شده RNAi ژن *chi* همراه با آنزیم‌های برشی تعبیه شده در آن در وکتور pBI121

این سازه حاوی ۵۳۰ جفت باز از قطعه سنس و آنتی سنس توالی mRNA ژن چالکون ایزومراز (*chi*) و قطعه ۷۴۱ جفت باز از ژن پیروات دهیدروژناز کیناز (*pdk*) به عنوان اینترون است که بین ناحیه سنس و آنتی سنس ژن *chi* قرار گرفته است. این سازه در پلاسمید pBI121 کلون شد که حاوی ژن مقاومت به کانامایسین، ژن گزارشگر *gus*، ترمیناتور NOS و پیشبر CaMV 35S است.

Figure 1- Designed RNAi construct for *chi* gene with restriction enzyme in pBI121 vector

chi-RNAi construct containing 530 kb sense and antisense of *chi*'s mRNA and 741 kb of *pdk* as intron that it replaced between sense and antisense of *chi* gene. This construct was cloned in pBI121 plasmid including kanamycin resistant gene, *gus* gene, NOS terminator and CaMV35S promoter.

جدول ۱- توالی آغازگرهای اختصاصی وکتور خاموشی حاوی ژن *chi* استفاده شده جهت آزمون PCR

Table 1- Sequence of specific primers for silencing vector containing *chi* for PCR

Primer name	Forward primer (5'→3')	Reverse primer (5'→3')	Synthesized fragment length
sense	CTATCCTTCGCAAGACCC	CAGCATTCGCAGTGCCAGTT	607
antisense	AAACTTCTCAATGGCACGAC	GCGGGACTCTAATCATAAAA	568
vir	GCGGTGAGACAATAGGCG'	GAACTGCTTGCTGTCGGC	2100
kan	ATTCGGCTATGACTGGGCAC	GTAAAGCACGAGGAAGCGGT	676

به منظور ضدعفونی برگ‌ها، ابتدا تمامی نمونه‌ها برای از بین بردن آلودگی‌های سطحی با آب شستشو شدند. سپس با محلول ۱ درصد هیپوکلریت سدیم به مدت ۱۰ دقیقه و پس از آن با محلول کاربندازیم ۱ در هزار به مدت ۱۰ دقیقه، تیمار شدند. شستشوی نهایی نمونه‌ها، ۳ مرتبه با استفاده از آب مقطر استریل در زیر هود لامینار انجام شد. برگ‌ها به قطعات کوچک ۰/۵ × ۰/۵ سانتی‌متر برش داده شده و به عنوان ریزنمونه استفاده شدند. ریزنمونه‌های برگی آماده شده به مدت ۱۰ دقیقه با محیط کشت تلقیح تیمار شدند. ریزنمونه‌ها به محیط کشت هم‌کشتی (محیط کشت MS حاوی ۲ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA فاقد آنتی‌بیوتیک و حاوی ۱۰۰ میکرومولار استوسرینگون) انتقال یافته و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد اتاق رشد و در تاریکی قرار داده شدند. پس از انجام هم‌کشتی، ریزنمونه‌ها به محیط کشت القای شاخه انتقال داده شدند که شامل نمک‌های محیط کشت MS، ۳۰ گرم در لیتر ساکارز،

۲ میلی‌گرم در لیتر BAP، ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA، ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر سفوتاکسیم و ۳۵ میلی‌گرم در لیتر آنتی‌بیوتیک کانامایسین بود. واکشت ریزنمونه‌ها هر دو هفته یک بار روی محیط کشت القاء شاخساره حاوی کانامایسین برای گزینش لاین‌های تراریخته و آنتی‌بیوتیک سفوتاکسیم برای از بین بردن اگروباکتریوم انجام شد. گیاهچه‌های تراریخته برای سازگاری به خاک منتقل شدند. محیط کشت گیاهچه شامل پیت ماس و پرلیت (۱:۱) بوده و جهت تامین رطوبت به اندازه کافی آبیاری شد. پس از استقرار و سازگاری کامل گیاهان، خصوصیات مورفولوژیک در گیاهان تراریخته و شاهد مورد بررسی قرار گرفت.

شناسایی وکتور RNAi حاوی ژن *chi* در گیاهان تراریخته

به منظور تایید انتقال سازه خاموشی حاوی ژن *chi* به گیاهان تراریخته، استخراج DNA از برگ‌های گیاهان تراریخته و شاهد با استفاده از کیت ستونی استخراج DNA شرکت دنا زیست آسیا (#S-1030, Iran) انجام شد. واکنش PCR و تایید گیاهان تراریخته با استفاده از دو جفت آغازگر سنتز شده برای وکتور خاموشی حاوی ژن *chi* انجام شد. همچنین برای تایید عدم آلودگی گیاهان تراریخته و شاهد، یک جفت آغازگر ژن *vir* و به منظور تایید ورود وکتور به گیاهان تراریخته، یک جفت آغازگر ژن کانامایسین (*kan*) طراحی و سنتز شد (جدول ۱).

استخراج RNA و سنتز cDNA

در این مرحله، استخراج RNA از گلبرگ‌های گیاهان تراریخته و شاهد با استفاده از کیت ستونی استخراج RNA شرکت دنازیست آسیا (#S-1020, Iran) انجام شد و RNA استخراج شده به منظور حذف آلودگی‌های احتمالی با DNase I در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه تیمار شد (Thermo Scientific DNase I#EN0525, USA).

آزمون qRT-PCR

در این مرحله از پژوهش، بیان ژن *chi* در گیاهان تراریخته حاوی وکتور خاموشی این ژن و گیاهان شاهد، با استفاده از روش qRT-PCR مورد بررسی قرار گرفت و از ژن *ef1A* به عنوان مرجع استفاده شد (جدول ۲).

جدول ۲- توالی آغازگرهای ژن *chi* و *ef1A* استفاده شده در qRT-PCR گیاه اطلسی

Table 2- *chi* and *ef1A* primer sequences used in petunia qRT-PCR

Primer name	Forward primer (5'→3')	Reverse primer (5'→3')	Synthesized fragment length
chi	TCTCCTCCAGTGTCCGTTAC	ACAAACTTCCCTTCTATCTCCAG	137
ef1A	CGGCGTCAACACCTACACC	GAAGTTTCCTGCTGCGATGG	180

تجزیه و تحلیل‌های آماری

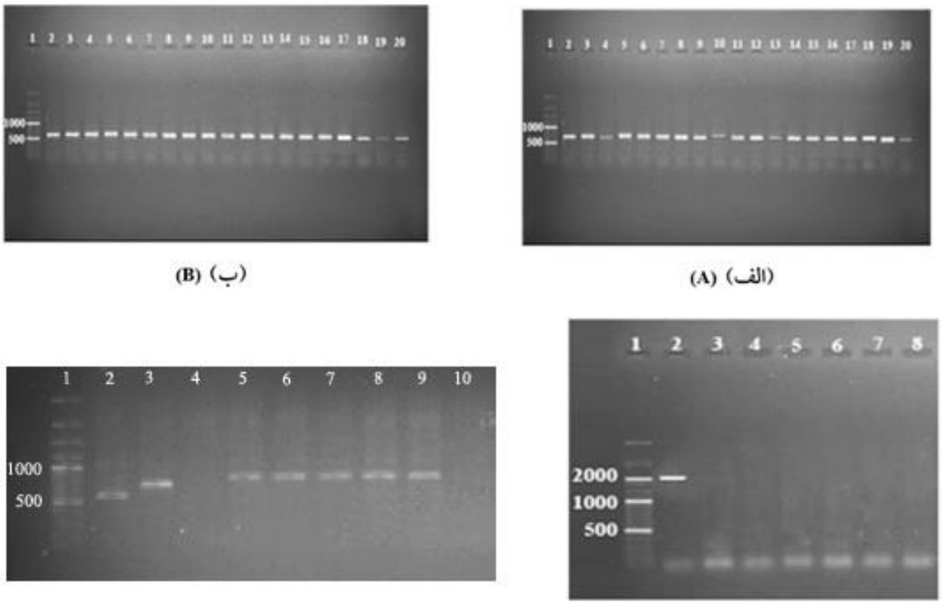
پژوهش حاضر در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. داده‌های حاصل با استفاده از نرم افزار SPSS v.16 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. مقایسه داده‌ها به روش آزمون t در سطح ۹۵٪ =α انجام شد و اشکال مربوط به میانگین‌ها و خطوط انحراف معیار مربوط به هر میانگین نیز توسط نرم‌افزار Excel رسم گردید.

نتایج و بحث

بررسی درج ترانسژن در لاین‌های تراریخته

گیاهان سازگار شده از نظر درصد تراریختی و تغییرات مورفولوژیکی ارزیابی شدند. از بین ۳۸ لاین مورد بررسی در گل‌های صورتی، ۲۲ لاین، باند bp ۶۰۷ و bp ۵۶۸ مربوط به هر یک از آغازگرهای استفاده شده در واکنش PCR را نشان دادند (راندمان تراریختگی ۵۷/۸۹ درصد)، در حالی‌که در ۱۶ لاین دیگر هیچ باندی مشاهده نشد (شکل ۲ الف و ب). در گیاهان با گل بنفش نیز ۱۰۰ نمونه مورد بررسی قرار گرفت و درصد تراریختی در این گیاهان ۸۴ درصد در نظر گرفته شد (گروه ۱: ۲۰ نمونه از ۲۰ نمونه، گروه ۲: ۱۸ نمونه از ۲۰ نمونه، گروه ۳: ۱۵ نمونه از ۲۰ نمونه، گروه ۴: ۱۸ نمونه از ۲۰ نمونه و گروه ۵: ۱۳ نمونه از ۲۰ نمونه) (شکل ۲ الف و ب). تفاوت در درصد تراریختی هر یک از گل‌های اطلسی با رنگ گل مختلف می‌تواند ناشی از تفاوت رقم در دریافت باکتری باشد. به عبارت دیگر کارایی انتقال ژن در ارقام مختلف، متفاوت است که در نتیجه منجر به تفاوت در درصد تراریختی در هر یک از گیاهان اطلسی مورد بررسی در این تحقیق شده است. به منظور بررسی عدم آلودگی نمونه‌های تراریخته، آزمون PCR با استفاده از ژن‌های *vir* انجام شد که در هیچیک از نمونه‌های تراریخته و شاهد (غیر تراریخت) باندی مشاهده نشد در حالی‌که در پلاسمید خالص pBI121 حضور این ژن تایید شد (شکل ۲–ج). همچنین به منظور تایید ورود وکتور به گیاهان تراریخت، حضور یا عدم حضور ژن *kan* (ژن مقاوم به آنتی بیوتیک کانامایسین موجود در وکتور pBI121) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که این ژن در تمامی گیاهان

تراریخت که سازه خاموشی را دریافت کرده‌اند حضور دارد در صورتی که در گیاهان شاهد (غیر تراریخت) این ژن حضور نداشت (شکل ۲-د). به منظور تایید حضور سازه در وکتور، PCR با آغازگرهای promoter و terminator که توالی آنها در جدول ۱ آورده شده است انجام شد که در وکتورهای نوترکیب، حضور قطعات ۶۰۷ و ۵۶۸ جفت باز مربوط به هر یک از آغازگرها تایید شد در حالی‌که در پلاسمید خالص (غیر نوترکیب) pBI121 باندی مشاهده نشد (شکل ۲-د).



(الف) (A) — (ب) (B) — (ج) (C) — (د) (D)

شکل ۲- آنالیز PCR جهت تایید ورود سازه به ژنوم گیاه اطلسی

الف) قطعه bp ۶۰۷ تکثیر شده با آغازگرهای پیشبر و ناحیه سنس ژن *chi*؛ ب) قطعه bp ۵۶۸ تکثیر شده با آغازگرهای ترمیناتور و ناحیه آنتی‌سنس ژن *chi*؛ الف و ب) چاهک ۱: سایز مارکر bp ۱۰۰؛ چاهک ۲۰-۲: گیاهان تراریخته؛ ج) قطعه kb ۲ ژن *vir*؛ چاهک ۱: سایز مارکر bp ۱۰۰؛ چاهک ۲: پلاسمید خالص pBI121 (غیر نوترکیب)؛ چاهک ۷-۳: لاین‌های تراریخته اطلسی حاوی سازه RNAi ژن *chi*؛ چاهک ۸: گیاه اطلسی شاهد؛ د) تایید حضور سازه خاموشی در پلاسمید pBI121 نوترکیب و عدم تکثیر در پلاسمید غیرنوترکیب؛ تایید حضور ژن *kan* در گیاهان تراریخته و عدم حضور در گیاه شاهد؛ چاهک ۱: سایز مارکر bp ۱۰۰؛ چاهک ۲: پلاسمید نوترکیب تکثیر شده با آغازگر antisense؛ چاهک ۳: پلاسمید نوترکیب تکثیر شده با آغازگر sense؛ چاهک ۴: پلاسمید غیر نوترکیب؛ چاهک ۹-۵: گیاهان تراریخته حاوی ژن *kan*؛ چاهک ۱۰: گیاه شاهد.

Figure 2- PCR analysis for conformation of construct introduction to petunia genome

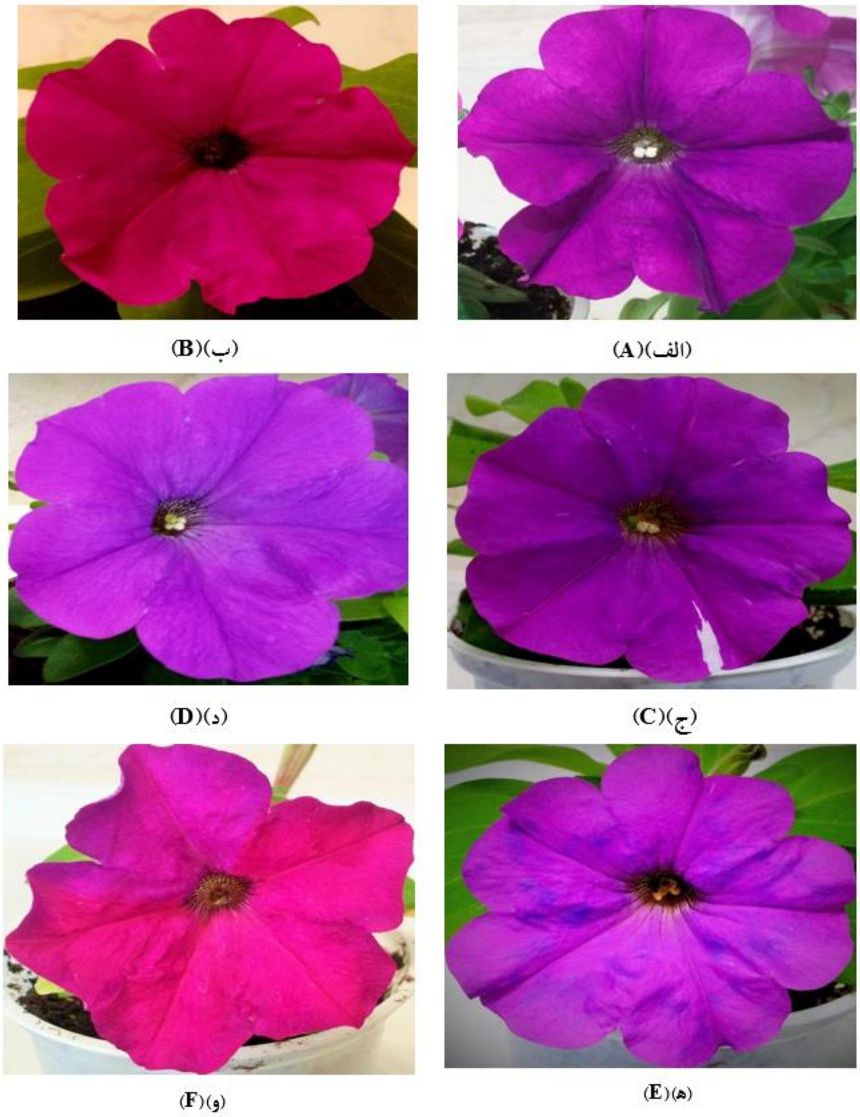
A) Synthesized 607 bp fragment with promoter and sense strand of *chi* primers; B) synthesized 568 bp fragment with terminator and antisense of *chi* primers; A and B) lane 1: 100 bp size marker; lane 2-20: transgenic plants; C) *vir* gene with 2 kb length; lane 1: 100 bp size marker; lane 2: pure pBI121 plasmid (non-recombinant); lane 3-7: petunia transgenic lines containing chi-RNAi construct; lane 8: control plant; D) presence of construct in recombinant pBI121 and its absence in non-recombinant plasmid; presence of *kan* gene in transgenic plants and its absence in control plant; lane 1: 100 bp size marker; lane 2: recombinant plasmid replicated with antisense primers (568 bp); lane 3: recombinant plasmid replicated with sense primers (607 bp); lane 4: non-recombinant plasmid; lane 5-9: transgenic plants containing *kan* gene; lane 10: control plant.

بررسی خصوصیات مورفولوژیک در لاین‌های تراریخته

در گیاهان تراریخته حاصل از گل‌های اطلسی مورد بررسی در این آزمایش، تغییرات متنوعی در رنگ گل مشاهده شد. بطوری‌که بیشترین تغییرات فنوتیپی مشاهده شده و بارز در گیاهان با رنگ گل بنفش بود. در بین نمونه‌های تراریخته در گیاهان بنفش، پنج فنوتیپ رنگ گل به صورت مجزا در نظر گرفته شد و با گیاهان اطلسی بنفش رنگ به عنوان شاهد مقایسه شدند (شکل ۳-الف). فنوتیپ V1، گیاهانی بودند که رنگ گل آن‌ها بطور کامل از بنفش به سرخابی تغییر یافته بود (شکل ۳-ب). در فنوتیپ V2، گل‌ها رنگ بنفش خود را حفظ کرده اما رگه‌های سفید رنگی در گلبرگ‌ها قابل مشاهده بود (شکل ۳-ج). گلبرگ‌های فنوتیپ V3، نسبت به شاهد کاملاً کمرنگ بودند (شکل ۳-د). فنوتیپ V4، گل‌هایی را تشکیل دادند که علاوه بر کمرنگ شدن رنگ گلبرگ‌ها، حالت شیمری یا به عبارتی هیبرید داشتند. به اینصورت که بعضی از نقاط روی گلبرگ‌ها به صورت لکه هایی با شدت رنگ بیشتر مشهود بود (شکل ۳-ه). تعداد گیاهان با فنوتیپ V5 کم بود و تنها دو گیاه این فنوتیپ را نشان داده و دو

رنگ بودند. به عبارتی نیمی از گلبرگ‌ها بـه رنـگ بـنفش و نیمـی از گلبرگ‌ها سرخابی بودند (شکل ۳-و).

علاوه بر تغییراتی که در رنگ گل گیاهان بنفش اطلسی مشـاهده شد، در بین ۴۰۲ لاین تراریخته، ۱۲۳ گیاه دارای بساک‌هایی با رنگی متفاوت از سایرین بودند. در تمـامی گیاهـان اطلسـی طبیعـی، رنـگ بساک زرد بود. در حالی‌که در ۱۲۳ لاین تراریخته بنفش، رنگ بساک از زرد به بنفش تغییر یافته بود (شکل ۴). این در حالی بود که در سایر گیاهان رنگ بساک زرد بوده و تغییری از نظر رنگ در آن‌ها مشـاهده نشد.



شکل ۳- تغییرات فنوتیپی مشاهده شده در لاین‌های تراریخته اطلسی با رنگ گل بنفش

الف) شاهد؛ ب) فنوتیپ V1: سرخابی؛ ج) فنوتیپ V2: بنفش با رگه‌های سفید؛ د) فنوتیپ V3: بنفش کمرنگ؛ ه) فنوتیپ V4: بنفش شیمر یا هیبرید؛ و) فنوتیپ V5: سرخابی و بنفش (دو رنگ).

Figure 3- Observed phenotypical changes in transgenic petunia with purple flowers

A) wild type; B) V1 phenotype: magenta; C) V2 phenotype: purple with white streaks; D) V3 phenotype: light purple; E) V4 phenotype: chimera or hybrid purple; F) V5 phenotype: magenta and purple (two colors).

(A) (الف)

(B) (ب)

شکل ٤- تغییرات مشاهده شده در رنگ بساک لاین‌های تراریخته بنفش

الف) گل و بساک گیاهان شاهد (حالت طبیعی)؛ ب) تغییر رنگ بساک در گیاهان تراریخته با رنگ گل بنفش.

Figure 4- Observed changes in anther of transgenic purple petunia

A) flower and anther in wild type; B) color change in anther of transgenic purple flowers.

(C) (ج) (B) (ب) (A) (الف)

شکل ٥- تغییرات فنوتیپی مشاهده شده در لاین‌های تراریخته اطلسی با رنگ گل صورتی

الف) شاهد؛ ب) فنوتیپ P1: صورتی کمرنگ؛ ج) فنوتیپ P2: صورتی با رگه‌های سفید.

Figure 5- Observed phenotypical changes in of transgenic pink petunia

A) wild type; B) P1 phenotype: light pink; C) P2 phenotype: pink with white streaks.

در بررسی لاین‌های تراریخته صورتی نیز تنها دو فنوتیپ مشاهده شد. گیاهانی که نسبت به شاهد کمرنگ بودند (P1) (شکل ۵-الف و ب) و گیاهان صورتی که رگه‌های سفید (P2) در آن‌ها مشخص بود و در گروه فنوتیپی دوم طبقه‌بندی شدند (شکل ۵-ج).

تغییرات فنوتیپی مشاهده شده در رنگ گل لاین‌های تراریخته مورد بررسی، نتیجه فعالیت سازه خاموشی ژن *chi* است که سبب خاموشی نسبی مسیر تولید رنگدانه‌های آنتوسیانین شده است که تولید کم رنگدانه‌ها و کمرنگ شدن لاین‌های تراریخته نسبت به شاهد را

بدنبال داشته است. در فنوتیپ‌هایی با رگه‌های سفید رنگ، احتمالاً خاموشی در بخش‌های سفید با فعالیت بیشتری عمل کرده (در این بخش‌ها خاموشی به صورت مطلق روی داده است) و منجر به متوقف شدن کامل مسیر تولید رنگدانه و تجمع نارنجین چالکون شده است که ماحصل آن تولید رنگدانه‌های سفید و فنوتیپ سفیدرنگ می‌باشد.

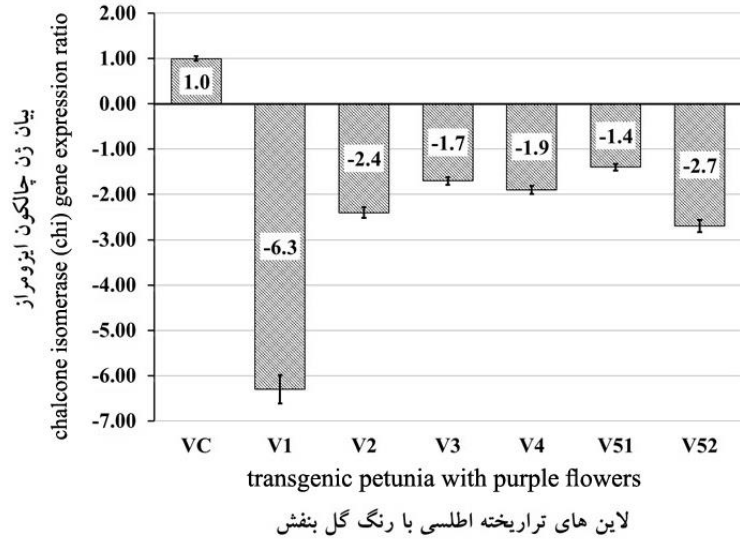
خاموشی ژن‌های چالکون سنتاز و چالکون ایزومراز در گیاهان تورنیا و توتون با استفاده از فناوری RNAi منجر به تولید گیاهانی شد که کاهش شدید رنگ را نشان دادند (Fukusaki *et al*., 2004؛ Nishihara *et al*., 2005). بطوری‌که در گیاهان تراریخته توتون، دو لاین، گل‌هایی به رنگ سفید و ده لاین، گل‌هایی به رنگ صورتی روشن تولید کردند.

در این آزمایش فنوتیپ‌های شیمر یا هیبرید نیز مشاهده شد که احتمالاً نتیجه عمل سازه RNAi در برخی از سلول‌های بافت گلبرگ (فعالیت کمتر ژن *chi* و تولید رنگدانه کمتر) و عدم فعالیت آن در بعضی از سلول‌های دیگر (عدم تغییر رنگ در این بخش از بافت گلبرگ) است که منجر به بروز طیفی از رنگ در بافت گلبرگ این نوع از گیاهان شده است، اما تولید رنگ سرخابی در لاین‌های تراریخته حاصل از گیاهان اطلسی بنفش رنگ، احتمالاً گویای توقف مسیر سنتز ترکیبات دلفینیدین و فعال شدن مسیر تولید ترکیبات سیانیدین در این نوع گیاهان است.

در تحقیقات انجام شده نیز این موضوع گزارش شده است، بطوری‌که در گیاهان تراریخته تورنیا، اطلسی و جنتیانای آبی با کاهش بیان ژن f3´5´h که یک آنزیم کلیدی موثر در تولید ترکیبات دلفینیدین است، تنوعی از رنگ گل (آبی تا صورتی) از طریق تجمع مشتقات سیانیدین مشاهده شد (Tsuda *et al*., 2004؛ Nakamura *et al*., 2006؛ Nakatsuka *et al*., 2008).

آزمون qRT-PCR

در بررسی بیان ژن *chi* در ۵ گروه فنوتیپی لاین‌های تراریخته اطلسی با شاهد، بیشترین کاهش بیان در فنوتیپ سرخابی (V1) مشاهده شد که بیان ژن *chi* در آن ۶ برابر نسبت به شاهد کاهش یافته بود. پس از آن کمترین بیان در لاین‌های تراریخته بنفش با رگه‌های سفید (V2)، بنفش شیمری (V4) و بنفش کمرنگ (V3) مشاهده شد که به ترتیب ۲/۴، ۱/۹ و ۱/۷ برابر نسبت به شاهد کاهش یافته بود. در مورد گروه فنوتیپی پنجم (V5) که دو رنگ بود، استخراج RNA از هر دو بخش بنفش (V51) و سرخابی (V52) انجام شد و آنالیز بیان برای هر بخش در ابتدا نسبت به شاهد و سپس با مقایسه دو بخش با هم صورت گرفت. در مقایسه بین V51 کاهش بیان ژن *chi* به میزان ۱/۴ نسبت به شاهد مشاهده شد اما این کاهش از نظر آماری معنی‌دار نبود ($p \leq 0.05$)، در حالی‌که کاهش بیان بخش سرخابی (V52) نسبت به شاهد ۲/۷ برابر بود. همچنین در مقایسه‌ای که بین دو بخش انجام شد (V51 و V52)، بیان ژن *chi* در بخش سرخابی ۱/۹ برابر نسبت به بخش بنفش رنگ کاهش یافته بود (شکل ۶).



شکل ٦- تغییر بیان ژن *chi* در ۵ گروه فنوتیپی لاین‌های تراریخته اطلسی با رنگ گل بنفش نسبت به شاهد

Figure 6- *chi* gene expression in 5 phenotypical groups of purple transgenic lines rather than wild type

از آنجایی‌که در کل نمونه‌های آزمایشی پژوهش حاضر، بساک های تغییر رنگ یافته فقط در ۱۲۳ لاین تراریخته بنفش رنگ حضور داشتند و در هیچیک از گیاهان شاهد و یا گیاهان تراریخته دیگر، تغییر رنگی در بساک گل مشاهده نشد، بیان ژن *chi* در این گیاهان

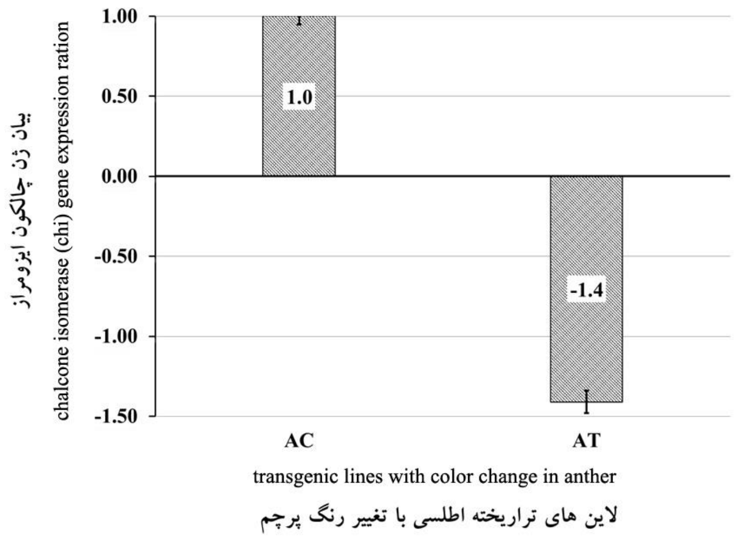
نیز مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور استخراج RNA از بساک گیاهان تراریخته و شاهد (۳ تکرار) انجام شد و پس از ساخت cDNA، بیان ژن مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آزمون qRT-PCR نشان‌دهنده کاهش معنی‌دار ($p\leq0.05$) ژن *chi* بود، بطوری‌که کاهش ۱/۶ برابری بیان این ژن در بساک گیاهان تراریخته نسبت به بساک گیاهان شاهد مشاهده شد (شکل ۷). ژن چالکون ایزومراز در بساک و دانه گرده گل نیز فعالیت دارد. پس کاهش بیان این ژن در بساک گیاهان تراریخته را می‌توان به اثر سازه خاموشی منتقل شده به ژنوم این گیاهان نسبت داد. اما در مورد تغییر رنگ پرچم‌ها به رنگ بنفش، گزارش خاصی وجود ندارد. رنگ بساک در لاین‌های تراریخته گیاه توتون حاوی سازه خاموشی ژن *chi* به زرد تغییر کرده بود (Wang *et al*., 2018؛ Nishihara *et al*., 2005)، انتظار می‌رفت کاهش بیان این ژن در لاین‌های تراریخته اطلسی نیز منجر به افزایش تجمع نارنجین چالکون و افزایش شدت رنگ زرد در بساک این گیاهان شود. ممکن است تجمع چالکون در بساک این گیاهان نیز اتفاق افتاده باشد، اما عوامل دیگری در عدم بروز رنگ زرد و تولید رنگدانه‌های بنفش در بساک این گیاهان نقش داشته باشد. برای مثال می‌تواند سایر مسیرهای موجود در چرخه فلاونوئیدها در بساک فعال شده باشد یا شرایط بیوفیزیکی محل تجمع رنگدانه‌ها (سیتوپلاسم، سیتوسل و بالاخص واکوئل) از قبیل تغییر در pH و یا فعال شدن عناصر یا یون‌هایی که بر روی تولید و تجمع رنگدانه در این مناطق نقش دارند، منجر به تجمع رنگدانه‌های بنفش در این لاین‌ها شده باشد. حتی ممکن است برهمکنشی از تمامی موارد ذکر شده، علت بروز رنگ بنفش در بساک این گیاهان باشد. هر چند تایید و تعیین دلیل یا دلایل قطعی این مشاهده نیازمند آزمایش‌های تکمیلی می باشد.

در گل‌های تراریخته صورتی نیز کاهش ۶ و ۴ برابری بیان ژن چالکون ایزومراز نسبت به شاهد مشاهده شد که به ترتیب مربوط به لاین‌های صورتی کمرنگ (P1) و لاین‌های صورتی دارای رگه‌های سفید (P2) بود (شکل ۸).

در تمامی لاین‌های تراریخته مورد بررسی و فنوتیپ‌های مشاهده شده، کاهش بیان ژن *chi* نسبت به گیاهان شاهد مشاهده شد که نشان‌دهنده کارایی سازه RNAi طراحی شده در خاموشی ژن چالکون ایزومراز (*chi*) می‌باشد که منجر به کاهش بیان ژن و ظهور فنوتیپ های جدید شده است.

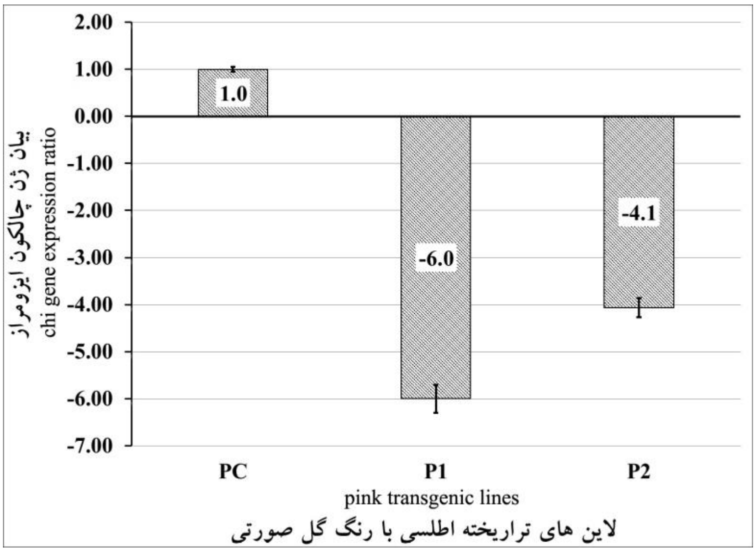
در پژوهش انجام شده، تفاوت در خصوصیات فنوتیپی و میزان بیان ژن *chi* و سایر ژن‌های بررسی شده در لاین‌های تراریخته، نشان‌دهنده تفاوت در درجه خاموشی و کارایی سازه RNAi مورد ارزیابی در اطلسی‌های مورد مطالعه است. بطوری‌که این تفاوت در بین گیاهان تراریخته موجود در یک رنگ نیز بوضوح قابل مشاهده است.

در گیاهان تراریخته توتون حاوی سازه‌های خاموشی مربوط به ژن‌های *f3΄h* و *fls* (فلاونول سنتاز) نیز تفاوت در درجه خاموشی در بین گیاهان تراریخته مشاهده شد (Nakatsuka *et al*., 2008؛ Fujino *et al*., 2018). در گیاهان جنتیانای تراریخته با رنگ گل یاسی، تغییر رنگ گل بدلیل تغییر در ترکیب آنتوسیانین‌ها نسبت داده شد، در حالی‌که در گیاهان تراریخته با رنگ گل آبی کمرنگ، کاهش در مقدار آنتوسیانین‌ها، دلیل اصلی تغییر رنگ در گیاهان مورد بررسی در نظر گرفته شده است (Nakatsuka *et al*., 2010).



شکل ۷- تغییر بیان ژن *chi* در لاین‌های تراریخته اطلسی با تغییر رنگ بساک نسبت به گیاهان شاهد

Figure 7- *chi* gene expression in purple transgenic lines with color change in anther rather than wild type



شکل ۸- تغییر بیان ژن *chi* در ۲ گروه فنوتیپی لاین‌های تراریخته اطلسی با رنگ گل صورتی نسبت به شاهد

Figure 8- *chi* gene expression in 2 phenotypical groups of pink transgenic lines rather than wild type

نتایج تحقیقات مختلف نشان‌دهنده کارایی بیشتر خاموشی در ژن‌های بالادست مسیر بیوسنتزی تولید آنتوسیانین‌ها است، بطوری‌که در تحقیقاتی که بر روی گیاه جنتیانا انجام شده است، در گیاهان تراریخته جنتیانا که حاوی سازه RNAi ژن f3´5´h بودند، فراوانی خاموشی نسبت به گیاهان جنتیانای حاوی سازه خاموشی ژن‌های *chs* و *ans* کمتر بود (Nishihara *et al*., 2005). به عبارتی موقعیت ژن مورد نظر در چرخه بیوسنتزی تولید رنگدانه و توالی ژن هدف مورد استفاده در روش RNAi نیز بر کارایی خاموشی موثر است. همچنین طول توالی ژن هدف نیز در فراوانی خاموشی ژن در گیاهان تراریخته تاثیر دارد. بطوری‌که قطعات با طول ۵۰۰–۷۰۰bp بیشترین تاثیر را در خاموشی ژن خواهند داشت، با اینحال، بسته به گونه گیاهی، طول قطعه انتخابی برای خاموشی می‌تواند از ۱۰۰–۱۰۰۰bp متفاوت باشد (Nakatsuka *et al*., 2010؛ Heilersig *et al*., 2006).

روش RNAi بطور گسترده‌ای برای کاهش بیان ژن‌های ساختاری موثر در بیوسنتز آنتوسیانین‌ها بکار گرفته شده است که سبب ممانعت از تجمع آنتوسیانین‌ها و تغییر رنگ گل در گیاهان تراریخته می‌شود (Chen *et al*., 2017؛ Nakatsuka *et al*., 2010؛ Fujino *et al*., 2018).

نتیجه‌گیری

نتایج این آزمایش بطور واضحی نشان داد که ممانعت از فعالیت ژن *chi* می‌تواند در گیاهان اطلسی با استفاده از خاموشی القا شده از طریق RNAi بدست آید و تغییر در مقدار ترکیبات فلاونوئیدی و رنگ در گلبرگ‌های این گیاهان واقع شود. در حقیقت نتایج این آزمایش موید حضور و نقش کلیدی این ژن در مسیر بیوسنتزی آنتوسیانین‌ها است که نقش اصلی را در واکنش تبدیل نارنجنین چالکون به فلاوانون ایفا می‌کند.

منابع

1. Ahloowalia, B.S., & Maluszynski, M. (2001). Induced mutations - A new paradigm in plant breeding. *Euphytica 118*, 167–173. https://doi.org/10.1023/A:1004162323428
2. Andersen, Y.M., & Makham, K.R. (2006). *Flavonoids: chemistry, biochemistry and applications*. CRS Press, Taylor & Francis group, Sound Parkway NW. 1212p. https://doi.org/10.1201/9781420039443
3. Chandler, S.F., & Sanchez, C. (2012). Genetic modification: the development of transgenic ornamental plant varieties. *Wiley Online Library*, *10*, 891–903. https://doi.org/10.1111/j.1467-7652.2012.00693.x
4. Chen, G., Liu, H., Wei, Q., Zhao, H., Liu, J., & Yu, Y. (2017). The acyl-activating enzyme PhAAE13 is an alternative enzymatic source of precursors for anthocyanin biosynthesis in petunia flowers. *Journal of Experimental Botany*, *68*, 457–467. https://doi.org/10.1093/jxb/.erw426
5. Delgado-Vargas, F., Jimenez, A.R., & Paredae-Lopez, O. (2000). Natural pigments: Carotenoids, Anthocyanins, and Betalains: characteristics, biosynthesis, processing, and stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *40*, 173-289. https://doi.org/10.1080/10408690091189257
6. Dixon, R.A. (2005). Engineering of plant natural product pathways. *Current Opinion of Plant Biology*, *8*, 329–336. https://doi.org/10.1016/j.pbi.2005.03.008

7. Fujino, N., Tenma, N., Waki, T., Ito, K., Komatsuzaki, Y., & Sugiyama, K. (2018). Physical interactions among flavonoid enzymes in snapdragon and torenia reveal the diversity in the flavonoid metabolon organization of different plant species. *The Plant Journal*, *94*, 372–392. https://doi.org/10.1111/tpj.13864
8. Fukusaki, E., Kawasaki, K., Kajayama, S., An, C., SuZuki, K., Tanaka, Y., & Kobayashi, A. (2004). Flower color modulations of *Torenia hybrida* by down regulation of chalcone synthase gene with RNA interference. *Journal of Biotechnology*, *111*, 229-240. https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2004.02.019
9. Heilersig, H.J.B., Loonen, A.E.H.M., Bergervoet, M., Wolters, A.M.A., & Visser, R.G.F. (2006). Post-transcriptional gene silencing of GBSSI in potato: effects of size and sequence of the inverted repeats. *Plant Molecular Biology*, *60*, 647-662. https://doi.org/10.1007/s11103-005-5280-6
10. Keykha, F., Bagheri, A., & Moshtaghi, N. (2016a). Analysis of chalcone synthase and chalcone isomerase gene expression in pigment production pathway at different flower colors of *Petunia hybrida*. *Journal of Cell and Molecular Research*, *8*, 8–14. https://doi.org/10.22067/jcmr.v8i1.50406
11. Keykha, F., Bagheri, A., Moshtaghi, N., Bahrami, A. R., & Sharifi, A. (2016b). Cellular and Molecular Biology RNAi-induced silencing in floral tissues of *Petunia hybrida* by agroinfiltration: a rapid assay for chalcone isomerase gene function analysis. *Cellular and Molecular Biology*, *62*, 26–31. https://doi.org/10.14715/cmb/2016.62.10.4
12. Kim, D.H., & Rossi, J.J. (2008). RNAi mechanisms and applications. *Biotechniques*, *44*, 613-616. https://doi.org/10.2144/000112792
13. Lin, J.J. (1995). *Electrotransformation of Agrobacterium, in Methods in Molecular Biology*, 47, Nickoloff, J. A., ed. Humana Press, Totowa, NJ. 171pp. https://doi.org/10.1385/0-89603-310-4:171
14. Nakamura, N., Fukuchi-Mizutani, M., Miyazaki, K., Suzuki, K., & Tanaka, Y. (2006). RNAi suppression of the anthocyanidin synthase gene in *Torenia hybrida* yields white flowers with high frequency and better stability than antisense and sense suppression. *Plant Biotechnology*, *23*, 13-17. https://doi.org/10.5511/PLANTBIOTECHNOLOGY.23.13
15. Nakatsuka, T., Mishiba, K., Abe, Y., Kubota, A., Kakizaki, Y., Yamamura, S., & Nishihara, M. (2008). Flower color modification of gentian plants by RNAi-mediated gene silencing. *Plant Biotechnology*, *25*, 61-68. https://doi.org/10.1007/s10529-010-0461-z
16. Nakatsuka, T., Mishiba, K. I., Kubota, A., Abe, Y., Yamamura, S., Nakamura, N., Tanaka, Y., & Nishihara, M. (2010). Genetic engineering of novel flower color by suppression of anthocyanin modification genes in gentian. *Journal of Plant Physiology*, *167*, 231-237. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2009.08.007
17. Nishihara, M., Nakatsuka, T., & Yamamura, S. (2005). Flavonoid components and flower color change in transgenic tobacco plants by suppression of chalcone isomerase gene. *FEBS Letters*, *579*, 6047-6078. https://doi.org/10.1016/j.febslet.2005.09.073
18. Nishihara, M., & Nakatsuka, T. (2010). Genetic engineering of novel flower colors in floricultural plants: recent advances via transgenic approaches. *Methods in Molecular Biology*, *589*, 325–347. https://doi.org/10.1007/978-1-60327-114-1_29
19. Nishihara, M., & Nakatsuka, T. (2011). Genetic engineering of flavonoid pigments to modify flower color in floricultural plants. *Biotechnology Letter*, *33*, 433-441. https://doi.org/10.1007/s10529-010-0461-z
20. Park, E.J & Chen, T.H.H. (2006). Improvement of cold tolerance in horticultural crops. *Haworth Food & Agricultural Products, Singapore* 69–120. https://doi.org/10.1300/J411v17n01_04
21. Potera, C. (2007). Blooming biotech. *Nature Biotechnolgy*, *25*, 963–965. https://doi.org/10.1038/nbt0907-963
22. Tanaka, Y., & Ohmiya, A. (2008). Seeing is believing: engineering anthocyanin and carotenoid biosynthetic pathways. *Current Opinion in Biotechnology*, *19*, 190–197. https://doi.org/10.1016/j.copbio.2008.02.015
23. Tanaka, Y., Brugliera, F., & Chandler, S. (2009). Recent progress of flower color modification by biotechnology. *International Journal of Molecular Sciences*, *10*, 5350-5369. https://doi.org/10.3390/ijms10125350
24. Thakur, A. (2003). RNA interference revolution. *Electeronic Journal of Biotechnology*, *6*, 39-49. https://doi.org/10.4067/S0717-34582003000100007
25. To, K.Y., & Wang, C.K. (2006). *Molecular breeding of flower color*. Floriculture, Ornamental and Biotechnology Volume. Global Science Books, UK. pp, 300-310.
26. Tsuda, SH., Fukui, Y., Nakamura, N., Katsumoto, Y., Yonekura-Sakakibara, K., Fukuchi-Mizutani, M., Ohira, K., Ueyama, Y., Ohkawa, H., A.Holton, T., Kusumi, T., & Tanaka, Y. (2004). Flower color modification of *Petunia hybrida* commercial varieties by metabolic engineering. *Plant Biotechnology*, *21*, 377-386. https://doi.org/10.5511/PLANTBIOTECHNOLOGY.21.377
27. Voorhuijzen, M.M., Prins, T.W., Belter, A., Bendiek, J., Brünen-Nieweler, C., van Dijk, J.P., Goerlich, O., Kok, E.J., Pickel, B., Scholtens, I.M.J., Stolz, A., & Grohmann, L. (2020). Molecular characterization and event-specific real-time PCR detection of two dissimilar groups of genetically modified Petunia (*Petunia x hybrida*) sold on the market. *Frontiers in Plant Science*, *11*, 11. https://doi.org/10.3389/fpls.2020.01047. eCollection 2020
28. Wang, Y., Xie, X., Ran, X., Chou, S., Jiao, X., Li, E., Zhang, Q., Meng, X., & Li, B. (2018). Comparative analysis of the polyphenols profiles and the antioxidant and cytotoxicity properties of various blue honeysuckle varieties. *Open Chemistry*, *16*, 637–646. https://doi.org/10.1515/chem-2018-0072

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

CC BY

Research Article
Vol. 37, No. 2, Summer 2023, p. 423-436

The Evaluation of Growth, Yield and Physiological Responses of African Horned Cucumber (*Cucumis metuliferus* L.) to Deficit Irrigation

M. Ghoreyshi[1], F. Nekounam[2], T. Barzegar[3]*, J. Nikbakht[4]

Received: 30-04-2022
Revised: 09-06-2022
Accepted: 29-06-2022
Available Online: 06-07-2022

How to cite this article:
Ghoreyshi, M., Nekounam, F., Barzegar, T., & Nikbakht, J. (2023). The evaluation of growth, yield and physiological responses of African Horned cucumber (*Cucumis metuliferus* L.) to deficit irrigation. *Journal of Horticultural Science*, *37*(2), 423-436. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jhs.2022.76473.1169

Introduction

Water stress is the most prominent abiotic stress limiting agricultural crop growth and productivity. Deficit irrigation stress as a consequence of the progressive decrease in water availability has been a hot topic regarding food security during the last two decades. Growth and development of plants is influenced by reduction in turgor that results in decreased nutrient acquisition from dry soil. When water supply is limited, plant growth and yield is reduced and plant structure is modified by decreasing in leaf size. The effect of deficit irrigation on fruit yield and quality has been reported by numerous researchers with different results. In melon, deficit irrigation reduced marketable fruit number and yield, average fruit weight, fruit diameter and did not affect rind thickness and seed cavity, but increased total soluble solids content. Although the effects of water stress have been studied on growth and yield of different crops during the last years, recent information on the response of African horned cucumber yield and quality to deficit irrigation remains limited, particularly about the results of restricted water distributions in arid and sub-arid environments. The main goal of this study was to evaluate the effect of controlled deficit irrigation on growth, physiological parameters and yield and fruit quality of African horned cucumber.

Material and Methods

Field experiment was performed based on a completely randomized block design with three irrigation regimes (60, 80 and 100 %ETc), whit three replications at Research Farm of University of Zanjan during the 2019. The African horned cucumber seeds were sown on 1th July 2020 at recommended spacing of 50 cm in row with 120 cm between rows. The irrigation system consisted of one drip line every crop row. The three irrigation levels were calculated based on actual evapotranspiration (ETc): (1) control, irrigated 100% crop water requirement, (2) deficit irrigation 80% ETc and (3) deficit irrigation 60% ETc. The Water requirement of the plant for control treatment was estimated using long-term average daily data of meteorological parameters recorded at Zanjan Meteorological Station and following relation. Before starting the differential irrigation at five-leaf stage, all treatments were supplied with similar amount of water to maximize stands and uniform crop establishment. During plant growth, the relative water content, proline content, electrolyte leakage, chlorophyll and carotenoids, P and K contents were measured. After fruit harvest, vine length of each plant, leaf dry weight and stem diameter were measured. The fruits were harvested when color changed from green to yellow. Fruit weight, fruit number per plant and fruit yield per plant was measured. Immediately after harvest, fruit firmness, total soluble solid, total phenols content, antioxidant capacity and vitamin C were determined.

1, 2 and 3- Former M.Sc. Student, Assistant Professor and Associate Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran, Respectively.
(*- Corresponding Author Email: tbarzegar@znu.ac.ir)
4- Associate Professor, Department of Water Engineering, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran
DOI: 10.22067/jhs.2022.76473.1169

Results and Discussion

As the results showed water deficit stress significantly reduced plant length, chlorophyll content, and increased carotenoids content. Based on the findings, deficit irrigation caused a significant reduction in leaf relative water content. According to the results, phosphorus and potassium contents in African horned cucumber leaves decreased with deficit irrigation treatments. The highest P and K contents were found under irrigation 100 %ETc treatment. Drought stress and associated reduction in soil moisture can decrease plant nutrient uptake by reducing nutrient supply through mineralization. The proline content increased with the deficit irrigation treatments; in particular with sever deficit irrigation (60 %ETc). Mean comparisons of data showed that deficit irrigation led to a significant increase in electrolyte leakage compared to control.

Water deficit stress caused significant reductions in yield. The highest fruit number per plant and yield were obtained under irrigation 100% ETc. The average fruit weigh significantly increased in response to increase water deficit stress. Deficit irrigation treatments significantly decreased vitamin C and fruit firmness. Significant differences among irrigation treatments were observed for total phenols and total soluble solid contents. The phenols and total soluble solid contents increased with the decrease of irrigation water applied. Antioxidant capacity was affected significantly by the irrigation treatments, and water deficit stress increased antioxidant capacity, which no significant difference was observed between irrigation 100 and 80 %ETc.

Conclusion

Water deficit has been shown to adversely affect plant growth, fruit yield, and leaf water status of African horned cucumber, but led to increase the TSS and antioxidant capacity. According to the results, fruit yield reduced 13.9 % under irrigation 80% ETc compared to irrigation 100% ETc, However, water consumption was saved by 20% and improved fruit weight and fruit quality with increasing soluble solids and antioxidant capacity.

Keywords: Antioxidant capacity, Electrolyte leakage, Fruit weight, Proline, Yield

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

مقاله پژوهشی
جلد ۳۷، شماره ۲، تابستان ۱٤۰۲، ص. ٤۳٦-٤۲۳

ارزیابی پاسخ‌های رشدی، عملکردی و فیزیولوژیکی خیار شاخدار آفریقایی (*Cucumis metuliferus* L.) به تنش کم آبیاری

مسلم قریشی[1]- فاطمه نکونام[2]- طاهر برزگر[3]*- جعفر نیکبخت[4]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۲/۱۰
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۳/۱۹
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۴/۰۸

چکیده

تنش خشکی به‌عنوان یک تنش غیرزیستی مهم رشد و عملکرد گیاهان را کاهش می‌دهد. به منظور بررسی اثر تنش کم آبیاری بر رشد، عملکرد و شاخص‌های فیزیولوژیکی خیار شاخدار آفریقایی، آزمایشی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در مزرعه پژوهشی دانشگاه زنجان در سال ۱۳۹۸ انجام شد. سطوح آبیاری شامل سه سطح ۱۰۰، ۸۰ و ۶۰ درصد نیاز آبی گیاه بود. نتایج نشان داد که تنش کم‌آبیاری، رشد و عملکرد میوه را بطور معنی‌داری کاهش داد. کمترین طول بوته، تعداد میوه (۱۰/۹) و عملکرد بوته (۱/۶ کیلوگرم) در تیمار کم آبیاری ۶۰ درصد حاصل شد. وزن میوه تحت تاثیر تنش کم‌آبیاری افزایش یافت و بیشترین وزن متوسط میوه (۱۶۴/۰۵ گرم) در تیمار کم آبیاری ۸۰ درصد حاصل شد. کیفیت میوه به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر تیمار آبیاری قرار گرفت. سفتی بافت میوه و مقدار ویتامین ث تحت تنش کم‌آبیاری کاهش یافت و مواد جامد محلول کل، مقدار فنل کل و ظرفیت آنتی اکسیدانی میوه افزایش یافت به‌طوری که بیشترین مقدار مواد جامد محلول (۴/۴۳ درصد بریکس)، فنل (۷/۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (۴۸/۷۸ درصد) و حداقل مقدار ویتامین ث (۱۰/۰۲ میلی‌گرم بر ۱۰۰ میلی‌لیتر) و سفتی بافت میوه (۲/۷۳ کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع) در تیمار کم آبیاری ۶۰ درصد مشاهده شد. با افزایش تنش کم‌آبیاری، محتوای نسبی‌آب برگ و محتوای کلروفیل، غلظت عناصر فسفر و پتاسیم برگ کاهش یافت. درصد نشت‌یونی، محتوای کاروتنوئید و تجمع پرولین در پاسخ به افزایش تنش کم‌آبیاری به طور معنی‌داری افزایش یافت. در تیمار کم آبیاری ۸۰ درصد، اگرچه عملکرد میوه ۱۳/۹ درصد کاهش یافت ولی در مصرف آب ۲۰ درصد صرفه‌جویی شد و با افزایش مواد جامد محلول و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، کیفیت میوه و اندازه میوه بهبود یافت.

واژه‌های کلیدی: پرولین، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، عملکرد، نشت یونی، وزن میوه

مقدمه

تنش کم‌آبی یکی از مهمترین تنش‌های محیطی محدود کننده تولید محصولات گیاهی در سراسر جهان محسوب شده و اثرات نامطلوبی بر رشد و نمو گیاه و سایر فرایندهای متابولیکی دارد (Lum *et al.*, 2014). تنش کم‌آبی یا کمبود آب زمانی در گیاه صورت می‌گیرد که تلفات آب در اثر تعرق بیشتر از میزان جذب آن باشد. رشد سلول که یکی از فرایندهای فیزیولوژیکی حساس به خشکی است، به دلیل کاهش در فشار تورژسانس، در شرایط تنش خشکی کاهش می‌یابد. اختلال در تقسیم میتوز، توسعه و طویل شدن سلول منجر به کاهش ارتفاع بوته، سطح برگ و رشد گیاه در این شرایط می‌شود (Harb *et al.*, 2010). در شرایط کمبود آب، میزان آب برگ کاهش می‌یابد و کاهش پتانسیل آب برگ موجب بسته شدن روزنه و در نتیجه کاهش هدایت روزنه‌ای می‌گردد که این امر در نهایت باعث کاهش فتوسنتز و متعاقبا کاهش رشد می‌شود. شرایط ناشی از کم آبی

۱، ۲ و ۳- به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد سابق، استادیار و دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان
(*- نویسنده مسئول: (Email: tbarzegar@znu.ac.ir
۴- دانشیار گروه مهندسی آب، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان
DOI: 10.22067/jhs.2022.76473.1169

موجب کاهش جذب تشعشع فعال فتوسنتزی، کاهش بهره‌وری تابش و شاخص برداشت می‌گردد که در نهایت موجب کاهش عملکرد می‌شود. کاهش عملکرد تحت تنش کم‌آبی به طور عمده ناشی از کاهش تعداد و اندازه میوه است (Abdalla and El-Khoshiban, 2007). مطالعات پیشین نشان داد که تنش کم‌آبیاری به‌طور معنی‌داری فعالیت آنتی اکسیدانی و میزان پرولین، فنل، فلاونوئید و فعالیت آنزیم های پراکسیداز و کاتالاز را افزایش داد و شاخص پایداری غشا، محتوای نسبی آب برگ و عملکرد کاهو را کاهش داد (Khani *et al.*, 2020). اعمال تنش کم‌آبیاری در گیاه بامیه، رشد و عملکرد میوه را به‌طور معنی‌داری کاهش داد (Barzegar *et al.*, 2016). در پژوهشی مشاهده شد که تنش کم‌آبیاری به‌طور معنی‌داری رشد، عملکرد و کارایی مصرف آب را کاهش و درصد نشت یونی و محتوای پرولین را در هندوانه رقم چارلستون‌گری افزایش داد (Parkhide *et al.*, 2018).

بسیاری از گیاهان، دارای مکانیسم خاصی جهت مقابله با شرایط کم آبی و افزایش کارآیی مصرف آب می باشند. یکی از مهمترین سازگاری‌های فیزیولوژیکی گیاهان تنظیم اسمزی است که از طریق تجمع ترکیبات آلی و غیرآلی در سلول، پتانسیل آب را کاهش داده و امکان جذب بیشتر آب از محیط های کم آب را برای گیاه فراهم می‌کند (Ashraf, 2010). این مواد عموماً شامل اسیدهای آمینه، قندها و اسیدهای آلی می‌باشند که در بین آنها احتمالا پرولین گسترده‌ترین ترکیب محلول است و به نظر می‌رسد تجمع آن در فرآیند سازگاری به تنش خشکی در بسیاری از گیاهان دخالت دارد. از مهمترین نقش‌های فیزیولوژیک تجمع پرولین در واکنش به کمبود آب، تنظیم فشار اسمزی و حفاظت از آنزیم‌های سیتوپلاسمی و ساختمانی غشاء است (Ghorbanli *et al.*, 2013). تجمع پرولین بر اثر تنش خشکی، در هندوانۀ وحشی (Zulu, 2009) و نشاهای خربزه (Kavas *et al.*, 2013) گزارش شده است. تنش رطوبتی در گیاه گشنیز منجر به کاهش محتوای نسبی آب بافت و پتانسیل آب برگ گردید. همچنین در این مطالعه تنش آبی سبب افزایش محتوای پرولین و مالون دی آلدهید شد (Anjali and Kale, 2007).

بررسی گستردۀ کم‌آبی، رویکردی ارزشمند برای تولید پایدار در مناطق خشک و نیمه خشک است. اهداف این رویکرد به بیشینه رساندن بهره‌وری مصرف آب و ایجاد بازده ثابت است. این روش در محصولات مختلف برای افزایش بهره‌وری آب بدون کاهش شدید عملکرد، موفقیت آمیز بوده است (Al-Ghobari *et al.*, 2013). محدودیت رشد برگ و افزایش مقاومت روزنه‌ای به تبادلات گازی، کاهش جریان آب و تغذیۀ معدنی را از ریشه به سوی قسمت‌های هوایی گیاه سبب می‌شود که بر جذب خالص تأثیر می‌گذارد و در نتیجه، تولید و تخصیص کربوهیدرات به قسمت‌های بالایی گیاه ازجمله میوه‌ها کاهش می‌یابد و به کاهش عملکرد منجر می‌شود (Shaw *et al.*, 2002). تنش کم آبی در مرحلۀ گلدهی، کاهش عملکرد و در مرحلۀ تشکیل میوه، کاهش کمیت و کیفیت میوۀ طالبی را باعث می‌شود و در مرحلۀ رسیدن بر کیفیت (مقدار قند) میوه تأثیر می‌گذارد (Fabeiro *et al.*, 2002).

خیار شاخدار آفریقایی (خربزه شاخدار یا کیوانو) دارای میوه‌ای سرشار از ترکیبات مختلف فیتوشیمیایی بخصوص ترکیبات فنولیک، ویتامین ث، بتا کاروتن و با طعم ترکیبی موز و خیار است، به‌عنوان یک میوه با رنگ پرتقالی پر از ژله سبز و دانه‌های سفید، در دهه‌های اخیر به میوه‌ای جهانی تبدیل شده است و در سال‌های اخیر در ایران نیز کشت می‌شود. از طرفی با توجه به اینکه خیار شاخدار آفریقایی گیاهی بومی آفریقا است و با احتمال متحمل بودن این گیاه به کم-آبی، می‌تواند به‌عنوان پایه برای گیاهانی مانند خیار مورد مطالعه قرار گیرد. بنابر بررسی‌های انجام شده اطلاعات کمی در مورد پاسخ‌های رشدی و فیزیولوژیکی خیار شاخدار آفریقایی به تنش کم‌آبیاری وجود دارد، لذا این تحقیق با هدف مطالعه پاسخ‌های رشدی و فیزیولوژیکی خیار شاخدار آفریقایی به تنش کم‌آبی انجام شد.

مواد و روش‌ها

به منظور ارزیابی رشد و عملکرد میوه و پاسخ‌های فیزیولوژیکی خیار شاخدار آفریقایی (*Cucumis metuliferus* L.) نسبت به تنش کم‌آبیاری، پژوهشی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه زنجان در سال ۱۳۹۸ اجرا گردید. تیمارهای آزمایشی شامل سه سطح آبیاری (۱۰۰، ۸۰ و ۶۰ درصد نیاز آبی گیاه) بود. هر واحد آزمایشی شامل شش بوته بود. جدول ۱ ویژگی‌های خاک محل آزمایش را نشان می‌دهد.

بذرها از شرکت فردین کشت کرج تهیه شد و در اواخر اردیبهشت سال ۱۳۹۸ به‌صورت مستقیم در مزرعه کشت شدند. فاصله‌ی ردیف‌ها ۱۲۰ سانتی‌متر و فاصله‌ی بوته‌ها ۵۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. در مرحله چهار الی پنج برگی تنش کم‌آبیاری اعمال شد (Barzegar *et al.*, 2018b) و تا آخر فصل رشد و برداشت محصول ادامه داشت. نیاز آبی برای تیمار شاهد با استفاده از میانگین بلند مدت داده‌های روزانه پارامترهای هواشناسی ثبت شده در ایستگاه هواشناسی زنجان (جدول ۲) و رابطه زیر محاسبه شد (Vaziri *et al.*, 2008).

$$ET_C = ET_0 \times K_C$$

جدول ۱- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه آزمایشی

Table 1- Soil physical and chemical properties on the site of experimental field

اسیدیته pH	هدایت الکتریکی EC ($dS.m^{-1}$)	نیتروژن Nitrogen (%)	کلسیم Calcium ($g.kg^{-1}$)	سدیم Sodium ($g.kg^{-1}$)	پتاسیم Potassium ($g.kg^{-1}$)	ماده آلی O.M. (%)	بافت خاک Soil texture	شن Sand (%)	سیلت Silt (%)	رس Clay (%)
7.4	1.49	0.07	0.12	0.13	0.2	0.95	لوم رسی Loam Clay	25	38	37

O.M , Organic matter

جدول ۲- میانگین بلندمدت پارامترهای هواشناسی ایستگاه سینوپتیک زنجان در دوره رشد گیاه (۱۳۹۸)

Table 2- Average daily climatic parameters of Zanjan Synoptic station during the growth season (2019)

	بارندگی Rainfall (mm)	تبخیر Evaporation (mm)	میانگین رطوبت نسبی Average relative humidity (%)	دمای حداقل Minimum temperature (°C)	دمای حداکثر Maximum temperature (°C)
اردیبهشت May	48.7	173.7	46.6	5.9	20.6
خرداد June	6.2	270.2	33.2	11.8	29.7
تیر July	0.0	320.9	34.2	15.3	35.0
مرداد August	0.1	308.1	34.4	16.1	34.5

پس از محاسبه مقادیر ETc، مقادیر نیاز خالص و نیاز ناخالص آب آبیاری گیاه بر اساس فواصل‌کشت، نوع سیستم آبیاری (قطره‌ای- نواری) و دور آبیاری (سه روز) برآورد شد و سپس در هر نوبت آبیاری به گیاه داده می‌شد. نیاز آبی سایر تیمارها (تیمارهای تنش کم‌آبیاری) بر اساس نیاز آبی تیمار شاهد و درصد تنش آبی، برآورد و توزیع شد.

صفات مورد ارزیابی

در پایان فصل رشد، طول بوته بر حسب سانتی‌متر و قطر ساقه بر حسب میلی‌متر ثبت شد. وزن خشک برگ به درصد بیان شد. در زمان برداشت (تغییر رنگ میوه‌ها از سبز به زرد) تعداد میوه‌های هر بوته شمارش و عملکرد آنها برحسب کیلوگرم در بوته محاسبه گردید. سفتی بافت میوه با استفاده از دستگاه سفتی‌سنج مدل (Mc-cormic-FT327) انجام گرفت. مواد جامد محلول میوه با استفاده از رفراکتومتر دستی مدل (ATAGO ساخت کشور ژاپن) بر حسب درصد بریکس اندازه‌گیری شد. میزان ویتامین ث (اسید آسکوربیک) با روش تیتراسیون و با کمک یدور پتاسیم و معرف نشاسته اندازه‌گیری شد (AOAC. 2005).

میزان فنل کل میوه با استفاده از معرف فولین سیوکالتو (Folin-Ciocalteaus) اندازه‌گیری گردید. برای این منظور ۰/۱ میلی‌لیتر از نمونه‌های رقیق شده همراه دو میلی‌لیتر کربنات سدیم (2% w/v) در لوله آزمایش ریخته شد و به‌مدت دو دقیقه در دمای اتاق نگه داشته شد. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از واکنش فولین سیوکالتو (۵۰ درصد) به آن اضافه شد. مخلوط واکنش به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و در تاریکی نگه‌داری شد و سپس میزان جذب آن در طول موج ۷۲۰ نانومتر خوانده شد (Singleton and Rossi, 1965). برای اندازه گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی از روش DPPH استفاده شد. ابتدا محلول ۰/۱ میلی‌مولار از DPPH تهیه شد. به این ترتیب که ۳/۹۵ میلی گرم DPPH در ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول مطلق حل شد. سپس از عصاره‌ها ۵۰ میکرولیتر به محلول DPPH اضافه شد به طوری که حجم نهایی ۲ میلی‌لیتر شد. جذب آن در ۱۵ دقیقه در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد (Dehghan and Khoshkam, 2012).

برای اندازه‌گیری محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی از دستگاه اسپکتروفتومتر (RS 232) SAFAS MONACO استفاده شد. ۰/۱گرم از نمونه برگ تازه را در هاون تمیز ریخته سپس بافت را با ۲۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد له کرده به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ کرده، بخش رویی به ارلن مایر ۱۰۰ میلی‌لیتری منتقل گردید. حجم را با استن ۸۰ درصد به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده سپس جذب محلول در طول موج‌های ۴۸۰، ۵۱۰، ۶۴۵، ۶۶۳ و ۶۵۲ نانومتر خوانده شد (شاهد اسپکتروفتومتری استن ۸۰ درصد است). سپس با استفاده از رابطه‌های زیر مقادیر کلروفیل a، b و کاروتنوئید محاسبه شد (Arnon, 1967).

$$\text{Chlorophyll a (mg g}^{-1}\text{ FW)}_t = 12.7\,(A_{663}) - 2.69\,(A_{645}) \times V/1000\,w$$

$$\text{Chlorophyll b (mg g}^{-1}\text{ FW)}_t = 22.9\,(A_{645}) - 4.68\,(A_{663}) \times V/1000\,w$$

$$\text{Carotenoid (mg g}^{-1}\text{ FW)}_t = 7.6\,(A_{480}) - 1.49\,(A_{510}) \times$$

V/1000 w

A: جذب طول موج ویژه V: حجم نهایی کلروفیل و کارتنوئید در استن ۸۰ درصد W: وزن تر بافت

جهت اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ، ابتدا وزن تر (FW) برگ‌ها اندازه‌گیری و سپس به‌منظور تعیین وزن در حالت اشباع (TW)، به مدت ۲۰ ساعت در شدت نور کم و در دمای اتاق در داخل آب مقطر قرار داده شدند. در پایان به‌منظور تعیین وزن خشک (DW)، برگ‌ها به‌مدت ۴۸ ساعت در آون دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. محتوای نسبی آب برگ‌ها با استفاده از رابطه زیر به‌دست آمد (Ritchie and Nguyen, 1990).

RWC= (FW-DW)/(TW-DW) × 100

درصد نشت یونی از طریق رابطه زیر با تقسیم هدایت الکتریکی اولیه (EC1) بر هدایت الکتریکی سلول های مرده (EC2) محاسبه شد (Ben Hamed *et al*., 2007).

EL= (EC_1/EC_2) ×100

اندازه‌گیری پرولین برگ به روش نین هیدرین (Bates *et al*., 1973) با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت گردید و در نهایت با توجه به منحنی استاندارد حاصل از غلظت‌های مختلف پرولین خالص که به صورت یک معادلهٔ رگرسیونی می‌باشد، بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه شد.

برای اندازه‌گیری غلظت فسفر و پتاسیم برگ، پس از قرار دادن یک گرم از برگ در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۵ ساعت در کوره الکتریکی (مدل GPC 1200 ساخت انگلیس) و تعیین درصد خاکستر آن، ۱۰ میلی‌لیتر اسیدکلریدریک ۲ نرمال به آن اضافه شد سپس حجم محلول به‌دست آمده پس از عبور از کاغذ صافی با افزودن آب مقطر به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسید. جذب محلول به‌منظور سنجش فسفر در طول موج ۴۲۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر و پتاسیم با فلیم‌فتومتر خوانده شد. در پایان پس از رسم منحنی استاندارد هر دو عنصر، مقدار آنها براساس میلی گرم بر ۱۰۰ گرم ماده خشک محاسبه گردید (Jackson, 1958).

داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SAS نسخه ۹/۱ آنالیز و مقایسه میانگین‌ها از طریق آزمون چند دامنه‌ای دانکن مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

نتایج و بحث

صفات رشدی

نتایج حاصل از جدول ۳ نشان داد که تیمار آبیاری اثر معنی‌داری بر طول بوته و وزن خشک برگ داشت. با اعمال تنش کم‌آبیاری طول بوته کاهش یافت که بیشترین طول بوته (۲۱۵/۶ سانتی‌متر) در گیاهان تحت آبیاری ۱۰۰ درصد حاصل شد. با افزایش تنش کمبود آب، وزن خشک برگ افزایش یافت که این افزایش فقط در تنش شدید معنی‌دار بود. بین سطوح ۱۰۰ و ۸۰ درصد آبیاری از لحاظ وزن خشک برگ اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۳). تیمارهای آبیاری بر قطر ساقه اثر معنی‌داری نشان نداد.

تأثیر تنش خشکی به شدت و مدت آن و همچنین به زمان وقوع آن در طول چرخه زندگی گیاه بستگی دارد. کاهش رشد واضح‌ترین پاسخ گیاه به تنش آبی است که از کاهش جذب آب توسط ریشه‌ها ناشی می‌شود که منجر به کاهش توسعه یاخته ناشی از کاهش فشار آماس و تقسیم یاخته‌ای، کاهش فتوسنتز ناشی از بسته شدن روزنه‌ها و تخصیص بیشتر مواد به بخش زیرزمینی باشد (Farooq *et al*., 2012). بر پایه‌ی نتایج گزارش‌های موجود در نتیجه تنش کم آبیاری، طول بوته در بسیاری از گیاهان مانند هندوانه (Suyum *et al*., 2012) و خربزه (Kusvuran, 2010) به طور معنی‌داری کاهش یافت. قهرمانی و همکاران (Ghahremani *et al*., 2021) گزارش کردند که طول و قطر ساقه در اثر تنش خشکی در گیاه خیار کاهش یافت. همچنین نجاریان و همکاران (Najarian *et al*., 2018) بیان داشتند که در اثر تنش خشکی وزن تر و خشک بوته خیار کاهش معنی‌داری داشت. گیاهان تحت تنش کم‌آبیاری درصد ماده خشک بیشتری داشتند که احتمالا این افزایش به علت تفاوت در ضخامت برگ یا ترکیب بافت برگ است. همچنین بیان شده است هر چه آب در دسترس گیاه کمتر شود از میزان آب آزاد اندام‌های گیاه کاسته شده و آب به‌صورت غیر آزاد در گیاه باقی می‌ماند و به میزان درصد وزن خشک افزوده می‌شود و هر چه رطوبت نسبی افزایش یابد بر میزان آب بافت‌ها افزوده می‌شود، این امر می‌تواند ناشی از ایجاد مقاومت بیشتر با تغییر فشار اسمزی گیاه باشد (Farooq *et al*., 2012). حسینی و همکاران (Hoseini *et al*., 2018) گزارش کردند که درصد ماده خشک بوته لوبیا سبز در اثر تنش خشکی افزایش یافت.

رنگیزه‌های فتوسنتزی

تنش کم‌آبیاری به‌طور معنی‌داری کلروفیل a و b را کاهش داد اما مقدار کارتنوئید افزایش یافت. با توجه به جدول مقایسه میانگین، بیشترین مقدار کلروفیل a (۰/۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و b (۰/۳۳ میلی‌گرم برگرم وزن تر) تحت شرایط آبیاری ۱۰۰ درصد نیاز آبی و کم‌ترین مقدار در گیاهان تحت شرایط آبیاری ۶۰ درصد نیاز آبی گیاه حاصل شد (جدول ۳). بیش‌ترین مقدار کاروتنوئید (۰/۱۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در تیمار ۶۰ درصد آبیاری مشاهده شد. محققان دیگر گزارش کردند محتوای کلروفیل برگ در خیار (Ghahremani *et al*., 2021) و کاهو (Khani *et al*., 2020) تحت تنش خشکی کاهش یافت.

دوام سطح برگ و حفظ کلروفیل برگ تحت شرایط تنش ازجمله

شاخص‌های فیزیولوژیکی مقاومت به تنش می‌باشند. از عوامل موثر بر کاهش محتوای کلروفیل در هنگام مواجه گیاهان با تنش خشکی، تولید گونه‌های واکنشگر اکسیژن و متعاقب آن پراکسیداسیون لیپیدها و تخریب کلروفیل است، همچنین در شرایط تنش غلظت تنظیم کننده‌های رشد مانند اسید آبسزیک و اتیلن افزایش می‌یابد که تحریک کننده آنزیم کلروفیلاز هستند و به این ترتیب کلروفیل تحت تأثیر این آنزیم تجزیه می‌شود (Orabi *et al.*, 2010). گزارش کردند کاهش میزان محتوای کلروفیل در شرایط تنش کم‌آبی، ممکن است به‌دلیل افزایش تخریب این رنگیزه‌ها و یا کاهش سنتز آنها و همچنین اختلال در فعالیت آنزیم‌های مسئول سنتز رنگدانه‌های فتوسنتزی باشد (Erdem *et al.*, 2006). کاروتنوئیدها در کلروپلاست به عنوان رنگدانه‌های کمکی در جذب نور فعالیت می‌کنند، اما مهم‌ترین نقش آنها، توانایی در رفع سمیت شکل‌های مختلف اکسیژن فعال است که در نتیجه برانگیختگی ترکیب‌های فتوسنتزی تولید می‌شوند (Kafi *et al.*, 2009). افزایش میزان کاروتنوئید در شرایط تنش با توجه به نقش آنها در سیستم دفاع اکسیدانی برای محافظت از رنگدانه‌های فتوسنتزی (کلروفیل) قابل انتظار است. همچنین افزایش آن تحت تنش نشان دهنده نقش آنها در تعدیل میزان رادیکال‌های فعال اکسیژن می‌باشد (Edreva, 2005).

نشت یونی

با اعمال تنش کم‌آبیاری، میزان نشت یونی برگ افزایش یافت و کمترین نشت یونی (۶۴/۶ درصد) در گیاهان تحت تیمار ۱۰۰ درصد آبیاری مشاهده شد (جدول ۳).

نشت یونی شاخصی برای استحکام غشاها می‌باشد. حفظ پایداری غشاها در شرایط تنش، نشان‌دهنده سازوکارهای کنترلی در تحمل به تنش خشکی است در شرایط کمبود آب رادیکال‌های آزاد مانند گروه هیدروکسیل و پراکسید تولید می‌شوند که برای گیاه سمی بوده و موجب آسیب به غشای سلولی و در نتیجه نشت یونی می‌شوند (Hong and Jj-yun, 2007). هنگامی که محتوای آب در اندام‌های گیاه در شرایط تنش خشکی کاهش می‌یابد، میزان آسیب وارده به غشاء هم افزایش می‌یابد که موجب افزایش تراوایی و نشت یونی از یاخته و مرگ آن می‌شود (Apel and Hirt, 2004). تنش کم آبیاری با القای تنش اکسایشی (اکسیداتیو) و تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن، سبب پراکسید اسیدهای چرب غشاهای یاخته‌ای شده و نفوذپذیری غشاء و نشت را افزایش می‌دهد. در بررسی پاسخ چهار رقم گوجه فرنگی در شرایط تنش خشکی مشخص شد که در زمان بروز تنش میزان نشت یونی از غشای سلول افزایش یافت (Mahmoudnia *et al.*, 2013).

پرولین

با توجه به نتایج (جدول ۳)، بین سطوح ۱۰۰ و ۸۰ درصد آبیاری تفاوت معنی‌داری از نظر مقدار پرولین برگ مشاهده نشد اما با اعمال تنش شدیدتر (۶۰ درصد) مقدار پرولین به‌طور قابل ملاحظه‌ای (۷/۴۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) افزایش یافت.

تجمع مواد محافظت کننده اسمزی در پاسخ به تنش کمبود آب یک پدیده رایج در سلول های گیاهی است. یکی از مهم‌ترین محافظ‌های اسمزی، اسیدآمینه پرولین است که برای کاهش اثرات نامطلوب تنش کم‌آبی در گیاهان تجمع می‌یابد (Lum *et al.*, 2014). پرولین اسیدآمینه آنتی‌اکسیدانی است که می‌تواند بدون آسیب به ساختار یا اختلال در متابولیسم سلولی، در مقادیر بالایی در سلول-های گیاهی تجمع یابد و به ایجاد تعادل اسمزی، پایداری غشاء و خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد کمک کند (Demiray *et al.*, 2013). اعمال تنش خشکی در گیاه هندوانه (Parkhideh *et al.*, 2018) و خیار (Ghahremani *et al.*, 2021) باعث افزایش معنی‌دار مقدار پرولین برگ شد. نظرات متفاوتی در رابطه با افزایش پرولین در برگ در شرایط تنش خشکی ذکر گردیده است که مهم‌ترین آن‌را تجزیه پروتئین‌ها در این شرایط و افزایش فعالیت آنزیم‌های مرتبط با سنتز پرولین در شرایط تنش خشکی بیان نموده‌اند (Ramroudi and Khomr, 2013).

محتوای نسبی آب برگ

با توجه به نتایج مقایسه میانگین، بیشترین محتوای نسبی آب برگ (۵۷/۷ درصد) تحت شرایط آبیاری ۱۰۰ درصد نیاز آبی مشاهده شد و تنش کم‌آبیاری به‌طور معنی‌داری محتوای نسبی آب برگ را کاهش داد، کم‌ترین مقدار (۴۲/۱ درصد) در گیاهان تحت تیمار آبیاری ۶۰ درصد ثبت شد (جدول ۳).

یکی از مناسبترین معیارها برای تشخیص اثر تنش خشکی بر گیاه، محتوای نسبی آب برگ است. محتوای نسبی آب با هدایت روزنه‌ای، سرعت تعرق و فتوسنتز ارتباط داشته و گیاهانی که قادر باشند محتوای نسبی آب خود را نسبت به شرایط تورژسانس کامل در حد مطلوبی حفظ کنند، عملکرد بهتری در شرایط تنش از خود نشان می‌دهند (Abdalla and El-Khoshiban, 2007).). نتایج این آزمایش با نتایج مطالعات پیشین که گزارش کردند تنش خشکی محتوای نسبی آب برگ را در خیار (Ghahremani *et al.*, 2021) کاهش داد همخوانی دارد. گزارش شد محتوای نسبی آب برگ خیار در اثر تنش خشکی کاهش یافت که به‌دلیل کاهش پتانسیل آب برگ و کاهش جذب آب از ریشه‌ها در شرایط خشکی می‌باشد (Naz *et al.*, 2016).

جدول ۳- مقایسه میانگین اثرات سطوح مختلف آبیاری بر صفات رشدی، فیزیولوژیکی و غلظت عناصر فسفر و پتاسیم گیاه خیار شاخدار آفریقایی

Table 3- Main comparison the effects different irrigation levels on growth, physiological traits and P and K concentration of African horned cucumber.

سطوح آبیاری Irrigation levels (ETc%)	پتاسیم Potassium (mg 100gDW$^{-1)}$	فسفر Phosphorus (mg 100gDW$^{-1)}$	محتوای نسبی آب Relative water content (%)	پرولین Proline (mg gFW^{-1})	نشت یونی Electrolyte leakage (%)	کاروتنوئید Carotenoids (mg gFW^{-1})	کلروفیل b Chlorophyll a (mg gFW^{-1})	کلروفیل a Chlorophyll a (mg gFW^{-1})	وزن خشک برگ Leaf dry weight (%)	قطر ساقه Stem diameter (mm)	طول بوته Plant Length (cm)
100	157.18 a	38.18 a	57.77 a	2.49 b	64.62 c	0. 6 c	0.33 a	0.70 a	26.72 b	18.45 a	215.66 a
80	141.79 b	3416 a	48.34 b	2.56 b	80.08 b	0.10 b	0.28 ab	0.53 ab	31.24 ab	17.62 a	206 b
60	122.16 c	23.88 b	42.19 c	7.45 a	89.16 a	0.13 a	0.20 b	0.33 b	32.31 a	16.67 a	180.66 c
معنی‌داری Significance	**	**	**	**	**	**	**	**	**	ns	**

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

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

در هر ستون میانگین‌های با دست کم یک حرف مشترک بدون اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد آزمون چنددامنه‌ای دانکن هستند.

In each column means with at least one common letter are lacked significant difference at 5% of probability level based on Duncan's multiple range test.

جدول ٤- اثرات سطوح مختلف آبیاری بر عملکرد و صفات کیفی میوه خیار شاخدار آفریقایی

Table 4- The effect of different irrigation levels on yield and fruit quality of African horned cucumber

سطوح آبیاری Irrigation levels (ETc%)	ظرفیت آنتی اکسیدانی DPPH (%)	فنل کل Total Phenols (mg g^{-1} FW)	ویتامین ث Vitamin C (mg. 100 mmL^{-1})	مواد جامد محلول TSS (Brix%)	سفتی میوه Fruit firmness ($Kg.cm^{-1}$)	وزن خشک میوه Fruit dry weight (%)	عملکرد بوته Plant Yield (kg)	وزن تر میوه Fresh Fruit Weight (g)	تعداد میوه Fruit number
100	21.32 b	4.27 b	14.68 a	3.20 c	3.79 a	5.95 a	4.01 a	135.2 c	29.65 a
80	37.10 ab	6.09 a	12.31 b	3.63 b	3.43 a	6.18 a	3.45 a	164.05 a	21.03 b
60	48.78 a	7.66 a	10.02 c	4.43 a	2.73 b	6.11 a	1.60 b	145.85 b	10.97 c
معنی‌داری Significance	**	**	**	**	**	ns	**	**	**

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

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

در هر ستون میانگین‌های با دست کم یک حرف مشترک بدون اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد آزمون چنددامنه‌ای دانکن هستند.

In each column means with at least one common letter are lacked significant difference at 5% of probability level based on Duncan's multiple range test.

عناصر فسفر و پتاسیم

اعمال تنش کم‌آبیاری موجب کاهش غلظت فسفر و پتاسیم برگ گردید که این کاهش برای فسفر فقط در شرایط تنش ۶۰ درصد معنی‌دار بود. با توجه به نتایج (جدول ۳)، اعمال تنش کم‌آبیاری ۶۰ درصد باعث کاهش ۳۷/۴ درصد غلظت فسفر و ۲۲/۲ درصد پتاسیم گیاهان نسبت به آبیاری ۱۰۰ درصد نیاز آبی گردید. خانی و همکاران (Khani *et al.*, 2020) گزارش کردند که تنش کم‌آبیاری در کاهو، محتوای فسفر برگ را کاهش و محتوای پتاسیم برگ را افزایش داد. تنش خشکی جذب پتاسیم و فسفر را به‌طور معنی‌داری در گیاه ذرت کاهش داد (Ge *et al.*, 2012).

تنش رطوبتی اغلب جذب عناصر غذایی توسط گیاه را محدود می‌سازد. جذب مواد غذایی به وسیله‌ی گیاهان تحت شرایط کمبود آب، به دلیل کاهش عرضه مواد غذایی از طریق کانی‌سازی، کاهش انتشار و جریان توده‌ای عناصر در خاک، کاهش تعرق، اختلال در سیستم انتقال فعال و نفوذپذیری غشاء و در نتیجه کاهش نیروی جذب کنندگی ریشه، کاهش می‌یابد. همچنین با کاهش رطوبت خاک، سرعت انتشار مواد غذایی از محیط خاک به سطح جذب کننده‌ی ریشه کاهش می‌یابد. تثبیت فسفر و پتاسیم در خاک، در شرایط کم آبی، از دیگر دلایل کمبود آن در گیاه ذکر شده است (Ge *et al.*, 2012). بیستا و همکاران (Bista *et al.*, 2018) که تنش خشکی غلظت یا فعالیت پروتئین‌های جذب اصلی نیتروژن و فسفر را کاهش می‌دهد و این تأثیرات منفی بر پروتئین‌های جذب مواد مغذی، دلیل بالقوه‌ای برای کاهش مشاهده شده در نرخ جذب فسفر توسط ریشه در طول خشکسالی است، که می تواند توضیح دهد که چرا درصد فسفر گیاه در اثر خشکی کاهش یافت.

عملکرد و اجزای عملکرد

تیمار آبیاری بر صفات تعداد میوه، وزن تازه و عملکرد بوته تاثیر معنی‌داری داشت (جدول ۴). اعمال تنش کم‌آبیاری تعداد میوه در بوته و عملکرد بوته را به‌طور معنی‌داری کاهش داد. حداکثر تعداد میوه (۲۹/۶۵ عدد) و عملکرد بوته (۴/۰۱ کیلوگرم) تحت آبیاری ۱۰۰ درصد نیاز آبی مشاهده گردید (جدول ۴). وزن متوسط میوه در اثر تنش کم‌آبیاری افزایش یافت، به‌طوری بیشترین وزن متوسط میوه (۱۶۴/۰۵ گرم) در تیمار کم‌آبیاری ۸۰ درصد حاصل شد. وزن خشک میوه تحت تاثیر تیمارهای آبیاری قرار نگرفت (جدول ۴).

یکی از شاخص‌های مهم در تعیین عملکرد خیار و خیار شاخدار آفریقایی، تعداد میوه است که طبق نتایج، تنش کم‌آبیاری باعث کاهش معنی‌دار تعداد میوه شده است و در نتیجه کاهش تعداد میوه منجر به کاهش عملکرد گردید. محققان گزارش کردند که در گیاهان خربزه و طالبی (Sharma *et al.*, 2014) و خیار (Najarian *et al.*, 2018) تعداد میوه و عملکرد کاهش یافت. کمبود بیش از حد آب می‌تواند تعداد میوه در بوته را به دلیل افزایش سقط گل کاهش دهد (Sharma *et al.*, 2014). در طول دوره تنش خشکی، سطح کل برگ و فتوسنتز برای هر گیاه به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد و کاهش سطح برگ و سطح فتوسنتز در اثر تنش کم آبی، دلیل اصلی کاهش عملکرد است. کاهش عملکرد در نتیجه کم‌آبی ممکن است به دلیل عدم رطوبت کافی خاک در منطقه ریشه باشد که در نتیجه آن فرآیندهای فیزیولوژیکی مختلف از جمله جذب مواد غذایی، رشد گیاه، فتوسنتز و تجمع ماده خشک گیاهی کاهش می‌یابد و این منعکس کننده عملکرد کمتر در اثر تنش کم‌آبی است (Shao *et al.*, 2008). کاهش تعداد میوه در بوته تحت کمبود آب باعث گردید متوسط وزن میوه در شرایط تنش افزایش یابد. بیشترین وزن تازه میوه (۱۶۴/۰۵ گرم) تحت شرایط آبیاری ۸۰ درصد حاصل شد (جدول ۴).

صفات کیفی میوه

سفتی بافت میوه، مواد جامد محلول کل و ویتامین ث از شاخص‌های مهم کیفیت میوه می‌باشند. سفتی بافت میوه خیار شاخدار آفریقایی با اعمال تنش کم‌آبیاری کاهش یافت بطوریکه کمترین میزان سفتی میوه (۲/۷۳ کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع) در آبیاری ۶۰ درصد مشاهده شد و بین سطوح آبیاری ۱۰۰ و ۸۰ درصد (به ترتیب ۳/۷۹ و ۳/۴۳ کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع) تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۴). نتایج ما با نتایج مشابه در گیاهان خربزه (Barzegar *et al.*, 2018b)، هندوانه (Parkhideh *et al.*, 2018b) و خیار (Ghahremani *et al.*, 2021) همخوانی دارد که تحت تنش کم آبیاری سفتی بافت میوه آنها کاهش یافت. عنصر کلسیم نقش مهمی در پایداری و استحکام دیواره و غشای یاخته‌ای دارد و از سوی دیگر، کلسیم در آوند چوبی در مسیر جریان تعرقی حرکت می‌کند، کاهش جذب این عنصر در اثر کم آبیاری باعث نرم شدن گوشت میوه می‌شود (Babalar *et al*; 1998).

مقدار مواد جامد محلول میوه با محدودیت مقدار آبیاری، افزایش یافت. بیشترین مقدار مواد جامد محلول (۴/۴۳ درصد بریکس) در تیمار کم‌آبیاری ۶۰ درصد و کمترین آن (۳/۲ درصد بریکس) در میوه گیاهان تحت آبیاری ۱۰۰ درصد به‌دست آمد (جدول ۴). مطالعات پیشین نشان دادند که محتوای قند میوه با تنش کم آبی همبستگی مثبت دارد (Dong *et al.*, 2009). همچنین نتایج مشابه در گیاهان خیار شاخدار آفریقایی (Maluleke *et al.*, 2021) و خیار (Ghahremani *et al.*, 2021) گزارش شده است. از دلایل افزایش درصد مواد جامد محلول میوه، کاهش میزان آب میوه و تجمع مواد

جامد محلول در سلول به دلیل افزایش تولید هورمون اسید آبسیزیک و غلبه بر کاهش پتانسیل اسمزی در شرایط خشکی می‌باشد. همچنین افزایش تنفس در تنش کم‌آبیاری باعث شکسته شدن پلی ساکاریدها و تبدیل آنها به ترکیبات ساده‌تر و افزایش مواد جامد محلول می‌شود (Ivan Garcia *et al*., 2011).

تنش کم‌آبیاری به‌طور معنی‌داری مقدار ویتامین ث میوه را کاهش داد. بیشترین مقدار ویتامین ث (۱۴/۶۸ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر) در میوه گیاهان تحت آبیاری ۱۰۰درصد حاصل شد. اعمال تنش کم-آبیاری ۶۰ درصد، محتوای ویتامین ث میوه را ۳۱/۷ درصد نسبت به آبیاری ۱۰۰ درصد کاهش داد (جدول ۴). نتایج تاکید می‌کنند که محتوای ویتامین ث به تنش کم آبی حساس است. نتایج ما با نتایج سایر محققان که گزارش کردند محتوای ویتامین ث میوه خربزه در اثر تنش خشکی کاهش یافت، مطابقت دارد (Wang *et al*., 2017 ; Barzegar *et al*., 2018b). مالوک و همکاران (Maluleke *et al*., 2021) گزارش کردند که اعمال تنش آبی شدید در گلخانه محتوای ویتامین ث میوه خیار شاخدار آفریقایی را کاهش داد.

محتوای فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی

با توجه به نتایج ، اعمال تنش کم‌آبیاری به‌طور معنی‌داری محتوای فنل کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه را افزایش داد. بیشترین مقدار فنل کل (۷/۶۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در میوه گیاهان تحت تنش ۶۰ درصد حاصل شد (جدول ۴). به‌طوری که با کاهش سطح آبیاری از ۱۰۰ درصد به ۸۰ درصد نیاز آبی گیاه، مقدار فنل کل از ۴/۲۷ به ۷/۶۶ میلی‌گرم در ۱۰۰گرم بافت تازه و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه از ۲۱/۳ درصد به ۴۸/۸ درصد افزایش یافت. نتایج نشان می‌دهد که رابطه مثبتی بین محتوای کارتنوئید، فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه‌ها وجود دارد. مطالعات نشان داد اعمال تنش آبی شدید در خاک لومی باعث افزایش محتوای فنل و فلاونوئید میوه خیار شاخدار آفریقایی شد (Maluleke *et al*., 2021).

ترکیبات فنولی شامل گروه بزرگی از متابولیت‌های ثانویه در گیاه هستند که خواص آنتی‌اکسیدانی از خود نشان می‌دهند. این ترکیبات به عنوان گیرنده رادیکال‌های آزاد عمل کرده و سبب تحمل گیاهان در برابر تنش‌های اکسیداتیو می‌شوند (Barzegar *et al*., 2018a ; Shi *et al*., 2018). افزایش مقدار این ترکیبات احتمالاً به‌دلیل نقش آنتی-اکسیدانی آنها در برابر گونه‌های فعال اکسیژن است. بسیاری از ترکیبات فنلی از پالاینده‌های بسیار کارآمد پراکسید هیدروژن، رادیکالهای هیدروکسیل و پراکسیل هستند و به‌همین دلیل می‌توانند متوقف کننده زنجیره پراکسیداسیون لیپید و باعث ثبات غشاها باشند (Shi *et al*., 2018).

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه‌ها و سبزی‌ها شامل ترکیبات آنزیمی مثل آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و همچنین ترکیبات غیر آنزیمی شامل ویتامین ث، ترکیبات فنلی و کارتنوئیدها می‌باشد و سیستم آنتی‌اکسیدانی باعث جلوگیری از اثرات پر خطر رادیکال‌های آزاد می‌شود (Barzegar *et al*., 2018 ; Shi *et al*., 2018)، همانطور که نتایج نشان می‌دهد در اثر تنش کم آبی مقدار کاروتنوئید، پرولین و فنل کل به‌عنوان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی غیر آنزیمی افزایش یافته است که رابطه مثبت با ظرفیت آنتی اکسیدانی دارند.

نتیجه‌گیری

تنش کم‌آبیاری باعث کاهش رشد و عملکرد میوه گردید. بر اساس نتایج، طول بوته و تعداد میوه بطور معنی‌داری تحت تنش کاهش یافت ولی با کاهش تعداد میوه در بوته تحت تنش کم‌آبیاری، وزن میوه افزایش یافت. نشت یونی و تجمع پرولین تحت تنش کم آبیاری افزایش یافت که همبستگی منفی با عملکرد داشت. همچنین با افزایش محتوای نسبی آب برگ، عملکرد میوه نیز افزایش یافت و بیانگر همبستگی مثبت و معنی‌دار این صفت با عملکرد می‌باشد. از نظر محتوای کلروفیل، درصد نشت یونی و عملکرد میوه بین سطوح آبیاری ۱۰۰ درصد و ۸۰۰ درصد نیاز آبی گیاه تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. در تیمار کم آبیاری ۸۰ درصد با کاهش ۲۰ درصدی مصرف آب، عملکرد کاهش معنی‌داری نسبت به آبیاری ۱۰۰ درصد نداشت ولی با افزایش تنش کم‌آبیاری تا ۶۰ درصد نیاز آبی گیاه، عملکرد کاهش معنی‌داری یافت و صفات کیفی میوه شامل مواد جامد محلول کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه افزایش نشان داد. بنابراین با توجه به محدودیت آب در کشور، آبیاری گیاهان با ۸۰ درصد نیاز آبی گیاه پیشنهاد می‌گردد.

منابع

1. Abdalla, M.M., & El-Khoshiban, N.H. (2007). The influence of water stress on growth, relative water content, photosynthetic pigments, some metabolic and hormonal contents of two *Triticum aestivum* cultivars. *Journal of Applied Science Research*, *3*, 2062-2074.
2. Al-Ghobari, H.M., Mohammad, F.S., & El-Marazky, M.S.A. (2013). Effect of intelligent irrigation on water use efficiency of wheat crop in arid region. *Journal of Animal and Plant Sciences*, *23*(6), 1691-1699.
3. Anjali, S., & Kale, P.B. (2007). Response and recovery of *Coriandrum sativum* L. variety indoor exposed to soil

moisture stress. *Indian Journal of Plant Physiology*, *12*, 266-270.
4. AOAC. (2000). *Official method of analysis of the association of official analytical chemists*. Washington D.C. 12: 377-378.
5. Apel, K., & Hirt, H. (2004). Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Plant Biology*, *55*, 373-399. http://dx.doi.org/10.1146/annurev.arplant.55.031903.141701
6. Arnon, A.N. (1967). Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal*, *23*, 112-121.
7. Ashraf, M., & Foolad, M.R. (2007). Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany*, *59*, 206-216. http://dx.doi.org/10.1016/j.envexpbot.2005.12.006
8. Babalar, M., Dolati Baneh, A., & Shraftyan, D. (1998). Effect of calcium chloride on the quality of post-harvest storage of two varieties of grape and currant Shahroudi. *Iranian Journal of Horticultural Science* *15*(1), 31-40. (In Persian with English abstract)
9. Barzegar, T., Fateh, M., & Razavi, F. (2018a). 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
10. Barzegar, T., Heidaryan, N., Lotfi, H., & Ghahremani, Z. (2018b). Yield, fruit quality and physiological responses of melon cv. Khatooni under deficit irrigation. *Advances in Horticultural Science*, *32*(4), 451-458. https://doi.org/10.13128/ahs-22456
11. Barzegar, T., Moradi, P., Nikbakht, J., & Ghahremani, Z. (2016). Physiological response of okra cv. Kano to foliar application of putrescine and humic acid under water deficit stress. *International Journal of Horticultural Science and Technology*, *3*(2), 187-197. https://doi.org/10.22059/ijhst.2017.213448.147
12. Bates, L.W., Aldren, R.P., & Teare, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*, *39*, 205-207.
13. Ben Hamed, K., Castagna, A., Salem, E., Ranieri, A., & Abdelly, C. (2007). Sea fennel (*Crithmum maritimum* L.) under salinity conditions: a comparison of leaf and root antioxidant responses. *Plant Growth Regulators*, *53*, 185-194.
14. Bista, D.R., Heckathorn, S.A., Jayawardena, D.M., Mishra, S., & Boldt, J.K. (2018). Effects of drought on nutrient uptake and the levels of nutrient-uptake proteins in roots of drought-sensitive and -tolerant grasses. *Plants*, *7*(2), 1-16. https://doi.org/10.3390/plants7020028
15. Dehghan, G., & Khoshkam, Z. (2012). Tin (II)–quercetin complex: Synthesis, spectral characterization and antioxidant activity. *Food Chemistry*, *131*(2), 422-426. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.08.074
16. Demiray, E., Tulek, Y., & Yilmaz, Y. 2013. Degradation kinetics of lycopene, β-carotene and ascorbic acid in tomatoes during hot air drying. *LWT-Food Science and Technology*, *50*(1), 172-176. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.06.001
17. Dong, C.X., Zhou, J.M., Fan, X.H., Wang, H.Y., Duan, Z.Q., & Tang, C. (2005). Application methods of calcium supplements affect nutrient levels and calcium forms in mature tomato fruits. *Journal of Plant Nutrition*, *27*, 1443-1455. https://doi.org/10.1081/PLN-200025861
18. Edreva, A. (2005). The importance of non-photosynthetic pigments and cinnamic acid derivatives in photoprotection. *Agriculture Ecosystems and Environment*, *106*(2), 135-146. https://doi.org/10.1016/j.agee.2004.10.002
19. Erdem, Y., Shirali, S. Erdem, T., & Kenar, D. (2006). Determination or crop water stress index for irrigation scheduling of Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal Agriculture and Forest*, *30*, 195-202.
20. Fabeiro, C., Martin de Santa Olalla, F., & De Juan, J.A. (2002). Production of muskmelon (*Cucumis melo* L.) under controlled deficit irrigation in a semi-arid climate. *Agricultural Water Management*, *54*, 93-105. https://doi.org/10.1016/S0378-3774(01)00151-2
21. Farooq, M., Somasundaram, R., & Panneerselvam, R. (2012). Drought stress in plants: a review on morphological characteristics and pigments composition. *International Journal of Agricultural and Biological Engineering*, *11*, 100-105.
22. Ferrara, L. (2018). A fruit to discover: *Cucumis metuliferus* E.Mey Ex Naudin (Kiwano). *Journal of Clinical Nutrition and Metabolism*, *5*, 1–2. https://doi.org/10.15761/CNM.1000109
23. Ge, T.D., Sun, N.B., Bai, L.P., Tong, C.L., & Sui, F.G. (2012). Effects of drought stress on phosphorus and potassium uptake dynamics in summer maize (*Zea mays*) throughout the growth cycle. *Acta Physiology of Plantarum*, *34*, 2179–2186. https://doi.org/10.1007/s11738-012-1018-7
24. Ghahremani, Z., Mikaealzadeh, M., Barzegar, T., & Ranjbar, M.E. (2021). Foliar application of ascorbic acid and gamma aminobutyric acid can improve important properties of deficit irrigated cucumber plants (*Cucumis sativus* cv. Us). *Gesunde Pflanzen*, *73*, 77–84. https://doi.org/10.1007/s10343-020-00530-6
25. Ghorbanli, M., Gafarabad, M., Amirkian, T., & Allahverdi Mamaghani, B. (2013). Investigation of proline, total protein, chlorophyll, ascorbate and dehydroascorbate changes under drought stress in Akira and Mobil tomato cultivars. *Iranian Journal of Plant Physiology*, 3, 651-658.

26. Jackson, M.L. (1958). *Soil chemical analysis*, Prentice Hall Inc, Englewood Cliffs, New Jersey. United States of America, 498.
27. Harb, A., Krishnan, A., Ambavaram, M.M., & Pereira, A. (2010). Molecular and physiological analysis of drought stress in Arabidopsis reveals early responses leading to acclimation in plant growth. *Plant Physiology*, *154*(3), 1254-1271. https://doi.org/10.1104/pp.110.161752
28. Hong, W., & Jj-yun, J. (2007). Effects of zinc deficiency and drought on plant growth and metabolism of reactive oxygen species in maize (*Zea mays* L.). *Agricultural Sciences in China*, *6*, 988-995. https://doi.org/10.1016/S1671-2927(07)60138-2
29. Hoseini, S.Z., Barzegar, T., Nikbakht, J., & Ghahremani, Z. (2018). Growth and physiological reactions of common bean cv. Sanry in response to salicylic acid and biostimulants under different irrigation regimes. *Journal of Plant Ecophysiology*, *10*(35), 73-87.
30. Ivan Garcia, T., Victor Hugo, D.Z., & Jose Luis, M.F. (2011). Long-term impact of sustained deficit irrigation on yield and fruit quality in sweet orange cv. Salustiana (SW Spain). *Comunicata Scientiae*, *2*(2), 76-84. https://doi.org/10.14295/cs.v2i2.41
31. Kafi, M., Borzoee, A., Salehi, M., Kamandi, A., Masoumi, A., & Nabati, J. (2009). *Physiology of environmental stresses in plants*. Publication of Ferdowsi University. 502 pp. (in Persian).
32. Kavas, M., Cengiz, M., & Akca, O. (2013). Effect of drought stress on oxidative damage and antioxidant enzyme activity in melon seedlings'. *Turkish Journal of Biology*, *37*, 491-498. https://doi.org/10.3906/biy-1210-55
33. Khani, A., Barzegar, T., Nikbakht, J., & Ghahremani, Z. (2020) Effect of foliar spray of calcium lactate on the growth, yield and biochemical attribute of lettuce (*Lactuca sativa* L.) under water deficit stress. *Advances in Horticultural Science*, *34*(1), 11-24. https://doi.org/10.13128/ahsc-8252
34. Kusvuran, S., Dasgan, H.Y., & Abak, K. (2011). Responses of different melon genotypes to drought stress. *Journal of Agriculture Science*, *21*, 209-219.
35. Liu, J.J., Lin, S.H., Xu, P.L., Wang, X.J., & Bai, J.G. (2009). Effects of exogenous silicon on the activities of antioxidant enzymes and lipid peroxidation in chilling-stressed cucumber leaves. *Agricultural Sciences in China*, *8*(9), 1075-1086. https://doi.org/10.1016/S1671-2927(08)60315-6
36. Lum, M., Hanafi, M., Rafii, Y., & Akmar, A. (2014). Effect of drought stress on growth, proline and antioxidant enzyme activities of upland rice. *Journal of Animal and Plant Sciences*, *24*, 1487–1493.
37. Mahmoudnia, M.M., Farsi, M., Marashi S., & Ebadi, P. (2013). Physiological response to drought stress in four species of tomato. *Journal of Horticultural Science*, *26*(4), 409-416. https://doi.org/10.22067/jhorts4.v0i0.18252
38. Maluleke, M.K., Moja, S.J., Nyathi, M., & Modise, D.M. (2021). Nutrient concentration of african horned cucumber (*Cucumis metuliferus* L) fruit under different soil types, environments, and varying irrigation water levels. *Horticulturae*, *7*(4), 76. https://doi.org/10.3390/horticulturae7040076
39. Najarian, M., Mohammadi-Ghehsareh, A., Fallahzade, J., & Peykanpour, E. (2018). Responses of cucumber (*Cucumis sativus* L.) to ozonated water under varying drought stress intensities. *Journal of Plant Nutrition*, *41*(1), 1-9. https://doi.org/10.1080/01904167.2017.1346665
40. Naz, H., Akram, N.A., & Ashraf, M. (2016). Impact of ascorbic acid on growth and physiological attributes of cucumber (*Cucumis sativus*) plants under water-deficit condition. *Pakistan Journal of Botany*, *48*(3): 877-883.
41. Orabi, S.A., Salman, S.R., & Shalaby, M.A. (2010). Increasing resistance to oxidative damage in cucumber (*Cucumis sativus* L.) plants by exogenous application of salicylic acid and paclobutrazol. *World Journal of Agricultural Sciences*, *6*, 252-259.
42. Parkhideh, P., Barzegar, T., Nikbakht, J., & Nekonam, F. (2018a). The evaluate of growth, yield and physiological responses of bitter apple (*Citrullus colocynthis*) under deficit irrigation stress condition. *Crops Improvement (Journal of Agricultural Crops Production)*, *20*(2), 357-369. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22059/jci.2018.225366.1641
43. Parkhideh, P., Barzegar, T., & Nekonam, F. (2018b). Growth, yield and physiological responses of watermelon cv. Charleston Gray grafted on bitter apple (*Citrullus colocynthis* L.) rootstock under deficit irrigation stress. *Iranian Journal of Horticultural Science*, *49*(2), 539-550. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22059/ijhs.2017.233823.1258
44. Ramroudi, M., & Khomr, A.R. (2013). Interaction effects of salicylic acid spraying and different irrigation levels on some quantity and quality traits, and osmoregulators in basil (*Ocimum basilicum*). *Applied Research of Plant Ecophysiology*, *1*(1), 19-31.
45. Ritchie, S.W., Nguyen, H.T., & Holaday, A.S. (1990). Leaf water content and gas-exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. *Crop Science*, *30*(1), 105-111. https://doi.org/10.2135/cropsci1990.0011183X003000010025x
46. Shao, H.B., Chu, L.Y., Jaleel, C.A., & Zhao, C.X. (2008). Water-deficit stress induced anatomical changes in higher plants. *Comptes Rendus Biologies*, *331*, 215-225. https://doi.org/10.1016/j.crvi.2008.01.002
47. Singleton, V., & Rossi, J. (1965). Colorimetry of total phenolic compounds with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, *16*, 144-158.

48. Sharma, S.P., Leskovar, D.I., Crosby, K.M., Volder, A., & Ibrahim, A.M.H. (2014). Root growth, yield, and fruit quality responses of reticulatus and inodorus melons (*Cucumis melo* L.) to deficit subsurface drip irrigation. *Agricultural Water Management*, *136*, 75-85. https://doi.org/10.1016/j.agwat.2014.01.008
49. Shaw, B., Thomas, T.H., & Cooke, D.T. (2002). Responses of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) to drought and nutrient deficiency stress. *Plant Growth Regulation*, *37*, 77-83. https://doi.org/10.1023/A:1020381513976
50. Shi, J., Zuo, J., Zhou, F., Gao, L., Wang Q., & Aili Jiang, A. (2018). Low-temperature conditioning enhances chilling tolerance and reduces damage in cold-stored eggplant (*Solanum melongena* L.) fruit. *Postharvest Biology and Technology*, *141*, 33–38. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.03.007
51. Suyum, K., Dasgan, H.Y., Sari, N., & Kusvuran, S. (2012). *Genotypic variation in the response of watermelon genotypes to salinity and drought stresses*. In: Proceedings of the 15th National Vegetable Symposium, Konya-Turkey. pp.225-230.
52. Vaziri, Z.H., Salamat, A., Ansari, M., Meschi, M., Heidari, N., & Dehqany Sanych, H. (2009). *Evapotranspiration plant (water consumption guidelines for plants)* (Translation). Publications of the National Committee of Irrigation and Drainage, printing, Tehran. (In Persian)
53. Wang, J., Huang, G., Li, J., Zheng, J., Huang, Q., & Liu, H. (2017). Effect of soil moisture-based furrow irrigation scheduling on melon (*Cucumis melo* L.) yield and quality in an arid region of Northwest China. *Agricultural Water Management*, *179*, 167-176. https://doi.org/10.1016/j.agwat.2016.04.023
54. Zulu, N.S. (2009). *Wild watermelon (Citrullus lanatus* L.*) landrace production in response to three seedling growth media and field planting dates*. M.Sc. thesis. Faculty of Agriculture KwaZulu-Nata University, Pietermaritzburg.

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

Research Article
Vol. 37, No. 2, Summer 2023, p. 437-451

Effect of Glycine Betaine Nanocomposite Coated with Chitosan and Moderate Salinity Stress on *In vitro* Microtuberization of Potato (*Solanum tuberosum* L.) cv. Agria

S. Mahmodi Soreh[1], A. Motallebi Azar[2*], J. Panahandeh[3], G. Gohari[4], A. Jahanian[5]

Received: 02-05-2022
Revised: 26-09-2022
Accepted: 01-12-2022
Available Online: 06-12-2022

How to cite this article:
Mahmodi Soreh, S., Motallebi Azar, A., Panahandeh, J., Gohari, G., & Jahanian, A. (2023). Effect of glycine betaine nanocomposite coated with chitosan and moderate salinity stress on *in vitro* microtuberization of potato (*Solanum tuberosum* L.) cv. Agria. *Journal of Horticultural Science, 37*(2), 437-451. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jhs.2022.76343.1165

Introduction

Potato (*Solanum tuberosum* L.) is an important food and cash crop having the first rank in the world from non grain crops to ensure food security. The tubers produced through the conventional propagation are characterized by low multiplication rate and susceptibility to pathogens. Microtubers are an ideal propagating material for producing high quality seed potatoes. Nowadays, the production, application, and biological risk assessment of nano-scaled products have attracted global concerns in various fields such as agricultural, biotechnological, medicinal, and plant sciences. Chitosan, a biocompatible polymer, has been widely utilized to improve the production of nano-chemicals, thereby improving crop growth, productivity, and immunity. Nanotechnology plays an important role in modern agriculture to address global challenges such as climate change, severity of plant diseases and the limited availability of important plant nutrients. Polymer-based nano-formulations have recently received the greatest attention with the key objectives of developing less harmful, plant growth promoting and protective agents of biodegradable and natural origin. Use of chitosan-based nanoparticles in agriculture field is still in a budding phase. Significant outcomes have been reported in *in vitro* and a few *in vivo* studies in plant growth and protection by chitosan-based nanomaterials.

Materials and Methods

MS medium containing 80 g of sucrose, containing glycine betaine at concentrations of 20 and 40 mg/l, chitosan at a concentration of 240 mg/l, glycine betaine 20 and chitosan 240 mg/l, glycine betaine 40 and chitosan 240 mg/l, 120 mg/l, glycine betaine nanocomposite coated with chitosan 120 and 240 mg/l and control treatment, as well as nonsalinity treatments with the same compounds and concentrations mentioned for salinity were cultured. The study was performed in randomized complete block design with three replications and sixteen treatment. Glycine betaine nanocomposite coated with chitosan were prepared at Maragheh University as follows. Chitosan, glycine betaine, and triphosphate are major consumables. First, chitosan was dissolved well with acetic acid under the influence of temperature. Then, a certain amount of glycine betaine was dissolved in distilled water and added to the chitosan. Tri-polyphosphate (TPP) was dissolved in distilled water at a certain volume ratio and added dropwise to the mixture of chitosan and glycine betaine. The precipitate obtained under the freeze-drying process lead to the preparation of its powder.

1, 2, 3 and 5- Former M.Sc, Associte Professors and Ph.D. Candidate, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email. Motallebiazar@gmail.com)
4- Associte Professor, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Maragheh, Iran
DOI: 10.22067/jhs.2022.76343.1165

Results and Discussion

According to the comparison of the means, treatment of glycine betaine coated with chitosan nanocomposite at a concentration of 120 mg/l produced the highest number of microtuber during the experiment from the first month to the final month. The nanocomposite was more capable of improving growth and biomass than the bare ZnONPs in pepper. The application of the nanocomposite increased the concentration of chlorophylls (51%), carotenoids (70%), proline (2-fold), and proteins (about 2- fold). The supplementation of culture medium with the nanomaterials upregulated enzymatic antioxidant biomarkers (catalase and peroxidase) (Asgari-targhi *et al.*, 2021). The highest mean microtuber weight was related to the nanocomposite treatment of 120 mg/l with a weight of 29 mg. In the microtuber diameter, this treatment had the highest value. The results of analysis of variance in Table 1 indicate that the effect of moderate salinity and the interaction of moderate salinity and nanocomposite treatments are not significant and the effect of experimental treatments is significant at the level of 5% probability. Due to the fact that the most important trait in the potato microtuberization is microtuber yield, so in the experiment, the highest microtuber yield was earned nanocomposite treatment with 131 mg and the lowest in control treatment with 87 mg. It seems that by using stress-reducing compounds such as glycine betaine and chitosan and nanocomposites, these compounds increase the amount of genes responsible for the formation of microtuber, and as a result, increasing the proteins involved in stresses induce more microtuberization. Also, nanocomposite materials, more assimilated materials may be transferred from the roots to microtuberization processes.

Conclusion

The microtuber produced in the glycine betaine coated with chitosan nanocomposite treatment produced the highest number of microtubers in the first, second, third, and final months. In treatments with moderate salinity in the first, second, third and final months, the number of microtuber and eyes and sprouted microtubers had the highest amount compared to the treatment without moderate salinity. Also, plants treated with glycine betaine voated with chitosan nanocomposite in the microtuber trate showed a greater effect than chitosan and glycine betaine with chitosan. According to the findings of this study, it seems that the use of nanocomposite materials in increasing the microtuber and reducing the vegetative growth of potato shoots has been made in Agria cultivar.

Keywords: Chitosan, Glycine betaine, Microtuberization, Nanocomposite

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

مقاله پژوهشی
جلد ۳۷، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۲، ص. ۴۵۱-۴۳۷

اثر نانو کامپوزیت گلایسین بتائین پوشش‌دار شده با کیتوسان بر ریز غده‌زایی درون شیشه‌ای سیب زمینی رقم آگریا تحت شرایط تنش شوری ملایم

صدیقه محمودی سوره[۱]- علیرضا مطلبی آذر[۲*]- جابر پناهنده[۳]- غلامرضا گوهری[٤]- امین جهانیان[٥]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۲/۱۲
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۷/۰۴
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۹/۱۰

چکیده

در سال‌های اخیر، کاربرد نانوذرات به طور موفقیت آمیزی در کشت بافت گیاهی استفاده شده است که با به کار بردن این مواد تاثیر شگرفی در حذف آلودگی‌های میکروبی ریز نمونه‌ها و همچنین نقش مثبت این مواد در کالوس زایی، اندام‌زایی، جنین‌زایی سوماتیکی، تنوع سوماکلونال، انتقال ژنتیکی و تولید متابولیت‌های ثانویه داشته است. در این پژوهش اثر نانوکامپوزیت گلایسین بتائین پوشش‌دار شده با کیتوسان در دو غلظت ۱۲۰ و ۲۴۰ میلی گرم در لیتر، گلایسین بتائین به تنهایی در دو غلظت ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم در لیتر، کیتوسان در غلظت ۲۴۰ میلی‌گرم در لیتر، ترکیب گلایسین بتائین ۲۰ و کیتوسان ۲۴۰ میلی‌گرم در لیتر، ترکیب گلایسین بتائین ۴۰ و کیتوسان ۲۴۰ میلی‌گرم در لیتر و تیمار شاهد در دو وضعیت با تنش شوری ملایم (۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) و بدون تنش شوری همراه با ۸۰ گرم ساکارز جهت بررسی صفات مربوط به ریز غده‌زایی سیب زمینی رقم 'آگریا' در شرایط درون کشت شیشه‌ای بررسی شد. این پژوهش به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۶ تیمار و ۳ تکرار اجرا شد. ریز غده‌های تولید شده در تیمار نانوکامپوزیت گلایسین پوشش‌دار شده با کیتوسان در ماه اول، دوم، سوم و چهارم بیشترین تعداد ریز غده را ایجاد نمودند. در تیمارهای دارای شوری ملایم تعداد ریز غده در ماه اول، دوم، سوم و چهارم، تعداد چشم در غده و ریز غده جوانه‌زده بیشترین مقدار را نسبت به تیمار بدون شرایط شوری ملایم دارا بودند. همچنین گیاهان تیمار شده با نانوکامپوزیت گلایسین بتائین پوشش‌دار شده با کیتوسان در صفات اندازه‌گیری شده ریزغده، اثرات مثبت و تاثیرگذار بیشتری نسبت به تیمارهای کیتوسان و گلایسین بتائین همراه با کیتوسان را نشان دادند. با توجه به یافته‌های این پژوهش به نظر می‌رسد استفاده از مواد نانوکامپوزیت در افزایش تعداد ریز غده و کاهش رشد رویشی شاخساره سیب زمینی درون شیشه‌ای رقم 'آگریا' موثر واقع شده است.

واژه‌های کلیدی: ریز غده‌زایی، کیتوسان، گلایسین بتائین، نانوکامپوزیت

مقدمه

سیب زمینی (*Solanum tuberosum* L.) محصولی با تکثیر رویشی است که توسط غده افزایش پیدا می‌کند و این روش باعث افزایش خطرات آلودگی‌های ویروسی، باکتریایی و قارچی می‌شود. از آنجایی که بیشتر گیاهان درون شیشه‌ای عاری از انواع پاتوژن‌ها هستند اما امکان آلودگی ویروسی آن‌ها وجود دارد. بیماری‌های ویروسی می‌توانند باعث کاهش شدید عملکرد محصول شوند، لذا استفاده از کشت‌های مریستم برای تولید گیاهان عاری از ویروس با استفاده از تکنیک‌های کشت بافت گیاهی یک امر ضروری به نظر می‌رسد (Mamiya *et al.*, 2020).

از شرایط محیطی تاثیرگذار در ریز غده‌زایی سیب زمینی، نور و دما می‌باشد در حالی که از موارد تاثیرگذار محیط کشت می‌توان به

۱، ۲، ۳ و ۵- به‌ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، دانشیاران و دانشجوی دکتری، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
(*- نویسنده مسئول: (Email: motallebiazar@gmail.com
۳- دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران
DOI: 10.22067/jhs.2022.76343.1165

ساکارز، نیتروژن، و تنظیم‌کننده‌های رشد اشاره کـرد (Donnelly et al., 2003). با استفاده از کشت بافت امکان تکثیر سریع و تامین حجم انبوهی از ریز غده‌های سالم و عاری از عوامل بیمـاری‌زا در فواصـل زمانی کوتاه فراهم می‌شود. ریزنمونه‌هـای مختلفـی ماننـد مریسـتم، پروتوپلاست، برگ، میان‌گره و غده، می‌توانند بـرای اهـداف مختلـف کشت بافتی در سیب زمینی استفاده شوند. برای ریزازدیادی در شرایط آزمایشگاهی معمولاً بخش‌های مختلـف سـیب زمینـی ماننـد گـره و میانگره ساقه به عنوان ریزنمونه استفاده می‌شود. باززایی ساقه از بافت چشم ریز غده نیـز قـبلا گـزارش شـده اسـت (Sadawarti et al., 2016). در مطالعات که قبلا انجام گرفته اسـت از قطعـات ریـز غـده بافت کالوس به دست آمده و بعد از آن شاخه‌زایی انجام شده است که به دلیل زمان بر بودن و احتمال ایجاد تنوع سوماکلونال خیلی استقبال نشده است ولی با استفاده از روش مستقیم و بدون ایجاد بافت کالوس می‌توان به شاخساره‌های زیـادی دسـت پیـدا کـرد (Borna et al., 2019).

پلی‌ساکارید کیتوسان یک کوپلیمر از ۲- گلوکز آمین و N - استیل D- گلوکز آمین است که به وسیله واکنش داستیله شـدن از کیتـین مشتق می‌شود. کیتین از فراوان‌ترین بیوپلیمرها بعد از سلولز می‌باشـد. این ماده آلی، ترکیب اصلی دیواره‌های سـلولی برخـی از جـانوران از جمله خانواده خرچنگ مانند میگو و خرچنگ، حشرات، پـاتوژن‌هـای گیـاهی و میکروارگانیسـم‌هـا را تـشکیل مـی‌دهـد (Malerba and Cerana, 2020). کیتوسان و مشـتقات آن ویژگـی‌هـای عملکـردی مختلفی را نشان می‌دهند، که این امر را ممکـن مـی‌کنـد کـه بـرای زمینه‌های مختلفی مانند غذایی، آرایشی، پزشکی زیستی، کشـاورزی، حفاظت محیط و مدیریت هدررفت آب اسـتفاده شـود (Shouqiang and Langlai, 2003). کیتوسان با تشکیل یـک غشـا نیمـه تـراوا، تبادلات گازی را تنظیم کرده و تعرق را کاهش می‌دهـد و در نتیجـه رسیدن میوه را بـه تـاخیر مـی‌انـدازد (Jianglian and Shaoying, 2013). همچنین گزارش شده است کـه کیتوسـان باعـث افـزایش سطح آبسیزیک اسید که نقش کلیدی در تنظیم آب با بسـتن روزنـه می‌شود و تعرق را در گیاهان کاهش می‌دهـد (Hidangmayum et al., 2019). کیتوسان دارای بارهای یونی مثبت است که این توانایی را به آن می‌دهد تا به طور شیمیایی با بارهای منفی لیپیدها، یون‌هـای فلزی، پروتئین‌ها و ماکرومولکول‌ها پیوند برقرار کند. کیتوسان می‌تواند رادیکال‌های OH و O_2 را از بین ببـرد و دارای ویژگـی محافظـت از DNAاست و تنش‌های محیطی حاصل از خشکی و شوری را کاهش دهد. مولکول‌های کیتوسان پاسخ‌های دفاعی در گیاه به راه می‌انـدازد که منجر به شکل‌گیری سدهای فیزیکی و شیمیایی بر ضد پاتوژن‌هـا می‌شود (Chibu, 2000).

گلایسین بتائین یکی از مهم‌ترین مواد با خاصیت سازگاری است که به عنوان یک محافظ اسمزی عمل می‌کند. گلایسـین بتـائین یـا بتائین یک تری متیـل حاصـل از اسـیدآمینه گلایسـین اسـت کـه از فرآوری محصول چغندرقند حاصل می‌شود. یکـی از راهکارهـایی کـه گیاهان برای سازگار شدن با شـرایط محیطـی نـامطلوب مثـل تـنش شوری، پیش می‌گیرند تجمع ترکیبات با وزن مولکولی پایین است که به مواد سازگاری معروف هستند. اگرچه نقش واقعی گلایسین بتـائین در تحمل به تنش اسمزی گیاه هنـوز مـورد بحـث اسـت، امـا تصـور می‌شود کـه اثـرات مثبتـی بـر یکپـارچگی آنـزیم و غشـا بـه همـراه نقش‌های سازگاری در تعدیل تنظیم اسـمزی در گیاهـان رشـد یافتـه تحـت شـرایط تـنش دارنـد. گلایسـین بتـائین بـه طـور عمـده در کلروپلاست تجمع می‌یابد و دارای نقش حیاتی در تنظیم و محافظـت از غشای تیلاکوئید دارد در نتیجه باعث افزایش کارایی فتوسنتز مـی شود. گلایسن بتائین اثرات تنش شوری را کاهش می‌دهـد (Ashraf and Foolad, 2007). کاربرد محلول‌پاشی برگی گلایسین بتـائین در گیاهان برنج باعث افزایش معنی‌دار در تحمـل شـوری گیاهـان شـد، همچنیـن در گیاهـان گوجـه فرنگـی اسـتفاده محلـول‌پاشـی برگـی گلایسین بتائین باعث افزایش ۴۰ درصدی در عملکرد محصول تحت شـرایط تـنش داشـت (Demiral and Türkan, 2004) همچنیـن گلایسین بتائین بیان ژنتیکی چندین پروتئین و آنزیم را تنظیم می‌کند (Castiglioni et al., 2018). این ماده در متابولیسم لیپیـدها، قنـد، اتانول نیز دخیل است. اختلالات متـابولیکی ناشـی از مصـرف بـالای اتانول توسط گلایسین بتائین کاهش مـی‌یابـد. همچنـین اخـتلالات متابولیکی مرتبط با متابولیسم چربی و کربوهیدرات را می توان توسـط گلایسین بتائین کاهش داد (Kumar et al., 2017).

امروزه بخش کشاورزی به دلیل تغییـر اقلـیم بـا موانـع مختلفـی مواجه است. شهرنشینی، کاهش زمین‌های زراعی، مرگ منابع طبیعـی و غیره از جمله این موانع می‌باشد. از این رو با توجـه بـه افـزایش روز افزون جمعیت جهان افزایش تولید محصولات در درجـه اول اهمیـت قرار دارد . با وجود افزایش قابل توجه سـالانه در کشـت محصـولات، نیاز به عملکرد بیشتر سبب توجه به راهکارهای ویـژه در ایـن زمینـه شده است. بنابراین ایجاد روش‌های مختلـف بـرای افـزایش عملکـرد می‌تواند راهکار مناسبی برای کاهش این کمبـود هـا شـود (Kim et al., 2017). این زمینه برای بسیاری از محققـان وجـود دارد کـه بـا استفاده از یک فناوری جدید در جهت تولید کارآمد و سازگار با محـیط زیست که بر اساس روش‌های علمی و خلاقانه ایجاد نمودهانـد باعـث افزایش قدرت گیاه و استقرار گیاه در برابر شرایط تنش‌زای زنده و غیر زنده شوند. به دلیل پیچیدگی بیماری‌ها و عوامل بیماری‌زای در حـال جهش، مدیریت بیماری‌ها صرفا با یک اقـدام کنترلـی بسـیار دشـوار است. ادغام کـردن علـم نـانو بـا مـواد بیوژنیـک[1] زمینـه جدیـدی از

1- biogenic substances

تحقیقات به عنوان نانوبیوتکنولوژی[1] را ایجاد کرده است. نانوبیوتکنولوژی نقش مهمی در کشاورزی مدرن ایفا می‌کند که می‌توان از این علم در مقابل چالش‌های جهانی مانند تغییرات آب و هوایی، آفات و بیماری‌های گیاهی و دسترسی محدود به مواد غذایی به صورت برجسته استفاده نمود. این چالش‌ها می‌توانند با توسعه نانومواد برای تیمار و محافظت از بیماری‌ها، افزایش توانایی گیاهان در جذب مواد مغذی و غیره مورد استفاده قرار گیرد. انواع مختلف نانومواد که عمدتاً مبتنی بر فلز هستند توسط چندین گروه از محققان مستقل در زمینه گیاهی مورد مطالعه قرار گرفته است (Saharan and Pal, 2016). فرمولاسیون نانو مبتنی بر پلیمر اخیراً بیشترین توجه را به خود جلب کرده اند که دارای مزایایی مانند ضرردهی کمتر، محرک رشد گیاه و عوامل حفاظتی زیست تخریب پذیر همراه با منشاء طبیعی می‌باشد (Meena *et al*., 2020). توانایی کیتوسان در کلات کردن یون‌های فلزی مانند Cu^{+2} و Zn^{+2} می‌تواند کامپوزیت کامل بر اساس اصول فناوری نانو ایجاد کند. مطالعات مختلف نشان داده است که بیوپلیمر کیتوسان در برابر اثرات مخرب شرایط تنش باعث افزایش کارایی گیاهان می‌شود که با تأثیرگذاری فیزیولوژیکی واکنش‌های ایمنی گیاه را مانند مکانیسم‌های دفاعی که شامل آنزیم‌های فنیل آلانین آمونیوم لیاز، پلی فنل اکسیداز، تیروزین آمونیوم لیاز و آنزیم‌های آنتی اکسیدانی SOD، CAT و POD (سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز) هستند را فعال می‌کند (Akbari *et al*., 2021). افزودن نانو ذرات نقره پوشش دار شده با پکتین[2] به محیط کشت بافت می‌تواند آلودگی باکتریایی را از بین ببرد و پتانسیل مورفولوژیکی ریزنمونه‌ها را افزایش دهد (Abedini *et al*., 2020). استفاده از نانوذرات مبتنی بر کیتوسان در زمینه کشاورزی هنوز در مرحله ابتدایی خود قرار دارد. محلول‌پاشی برگی فنیل آنالین پوشش‌دار شده با کیتوسان توانست اسیدیته قابل تیتراسیون[3]، کل مواد جامد محلول، اسید آسکوربیک، فلاونوئید و فنل کل، آنتوسانین و فعالیت آنزیم فنیل آنالین آمونیالیاز (PAL) را در میوه انگور رقم سلطانین افزایش دهد و بهبود کیفیت و افزایش پتانسیل آنتی اکسیدانی را موجب شود (Gohari *et al*., 2021). بررسی صورت گرفته در پس از برداشت میوه آلو رقم Stanley و برای محافظت از تنش یخزدگی در شرایط نگهداری در دمای ۱ درجه سانتی‌گراد برای مدت بیش از ۴۰ روز نشان داده شد که استفاده از تیمار نانوذره گلایسین بتائین پوشش‌دار شده با کیتوسان با غلظت ۰/۵ درصد وزنی حجمی به عنوان موثرترین تیمار پس از برداشت باعث کاهش اثرات آسیب دیدگی یخزدگی بود (Mahmoudi *et al*., 2022).

با توجه به اهمیت ریزغده‌زایی در مسیر تولید انبوه غده بذری عاری از ویروس، این تحقیق آزمایشی برای پاسخ به فرضیه استفاده از تنش ملایم NaCl جهت القای افزایش ریزغده‌زایی همراه با نانوکامپوزیت گلایسین بتائین پوشش‌دار شده با کیتوسان به عنوان یک ترکیب جدید برای تاثیرگذاری بهتر و بیشتر در شرایط درون شیشه‌ای طراحی شده است. لذا این تحقیق اثرات ترکیبات گلایسین بتائین، کیتوسان و نانوکامپوزیت گلایسین بتائین پوشش‌دار شده با کیتوسان بر روی فرآیندهای ریزغده‌زایی در دو شرایط بدون تنش و تنش ملایم NaCl بررسی شد.

مواد و روش‌ها

سنتز نانوکامپوزیت گلایسین بتائین پوشش‌دار شده با کیتوسان

برای تهیه این نانوکامپوزیت، از یک پلیمر زیستی برای بارگیری[4] روی گلایسین بتائین استفاده شد. در این آزمایش، ۰/۱ گرم پودر نانوکامپوزیت با وزن مولکولی کم کیتوسان به ۲۵ میلی‌لیتر محلول اسید استیک ۱ درصد وزنی اضافه شد و به مدت ۲ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد با استفاده از همزن مغناطیسی هم زده شد تا محلول شفاف کیتوسان بدست آید. ۰/۱ گرم گلایسین بتائین در ۱۵ میلی‌لیتر آب مقطر حل نموده و به محلول کیتوسان اضافه می‌نماییم و سپس به مدت ۱ ساعت با سرعت زیاد توسط همزن مغناطیسی هم زده می‌شود. در این آزمایش، سدیم تری پلی فسفات (TPP) به عنوان یک اتصال دهنده فرعی[5] با نسبت ۲/۵ به ۱ به محتوای کیتوسان استفاده شد. در نهایت ۰/۰۴گرم TPP در ۵ میلی‌لیتر آب مقطر حل شده و سپس به آرامی به محلول کیتوسان- گلایسین بتائین اضافه شد. TPP در حالت اتصال فرعی با نانوذرات کیتوسان باعث انعقاد می شود و این مخلوط منعقد کننده به مدت یک شب هم زده می‌شود و سپس چندین بار با آب مقطر شستشو داده شد تا مواد از مایع رویی تمیز شود.

مواد گیاهی و شرایط کشت

در این آزمایش از ریز نمونه‌های درون شیشه‌ای عاری از ویروس سیب زمینی رقم 'آگریا' موجود در آزمایشگاه کشت بافت گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز که تحت شرایط تاریکی ۱۶ ساعت نوری و ۸ ساعت تاریکی قرار داشتند، استفاده گردید. جهت انجام کشت، قلمه‌های تک گره از جوانه‌های جانبی گیاهچه‌های درون شیشه‌ای عاری از ویروس تهیه شد. این قلمه‌ها با طول تقریبی یک

1- nano-biotechnology
2- Pectin-tagged Nano Silve
3- titratable acidity (TA)
4- loading
5- cross-linker

سانتی‌متر و با رعایت قطبیت به محیط کشت ریزغده‌زایی استریل شده حاوی تیمارهای مورد نظر انتقال یافتند. پس از اتمام فرآیند کشت، شیشه‌های حاوی ریزنمونه‌ها به درون اتاقک رشد با شرایط تاریکی مطلق و در دمای ۲± ۱۸ درجه‌ی سانتی‌گراد منتقل شدند. کشت‌ها به مدت ۴ ماه در این شرایط نگهداری شدند و هر ماه یک بار از آنها یادداشت‌برداری صورت گرفت. در این پژوهش اثر نانوکامپوزیت گلایسین بتائین پوشش‌دار شده با کیتوسان (۱۲۰ و ۲۴۰ میلی‌گرم در لیتر)، گلایسین بتائین (۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم در لیتر)، کیتوسان (۲۴۰ میلی‌گرم در لیتر)، ترکیب گلایسین بتائین ۲۰ و کیتوسان ۲۴۰ میلی‌گرم در لیتر، ترکیب گلایسین بتائین ۴۰ و کیتوسان ۲۴۰ میلی‌گرم در لیتر در دو سطح تنش شوری ملایم (۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) و بدون تنش بر ریز غده‌زایی درون شیشه‌ای سیب زمینی در مدت زمان ۴ ماه مورد بررسی قرار گرفت. در این آزمایش مقدار ۸۰ گرم در لیتر ساکارز و ۸ گرم در لیتر آگار مورد استفاده قرار گرفت.

داده‌برداری صفات

بعد از گذشت مدت زمان یک ماه از تاریخ کشت ریز نمونه‌ها، یادداشت‌برداری صفات انجام گرفت. در مرحله ریزغده‌زایی صفات مورفولوژیکی تعداد ریز غده ماه اول، دوم، سوم و چهارم بعد از کشت قلمه‌های تک گره، تعداد استولون، طول استولون (میلی‌متر)، وزن ریز غده (میلی‌گرم)، عملکرد ریز غده (میلی‌گرم در هر تیمار آزمایش) و قطر ریز غده (میلی‌متر) یادداشت برداری گردید. برای اندازه‌گیری صفات از ترازوی حساس(شرکت اوهاس مدل DV215CD ساخت شرکت سوئیس با دقت ۰/۰۰۱ گرم)، برای اندازه‌گیری طول ریز غده و میانگره از خط‌کش و برای اندازه‌گیری قطر ریز غده از کولیس دیجیتال (MITUTOYO) ساخت کشور ژاپن استفاده شد.

تجزیه آماری

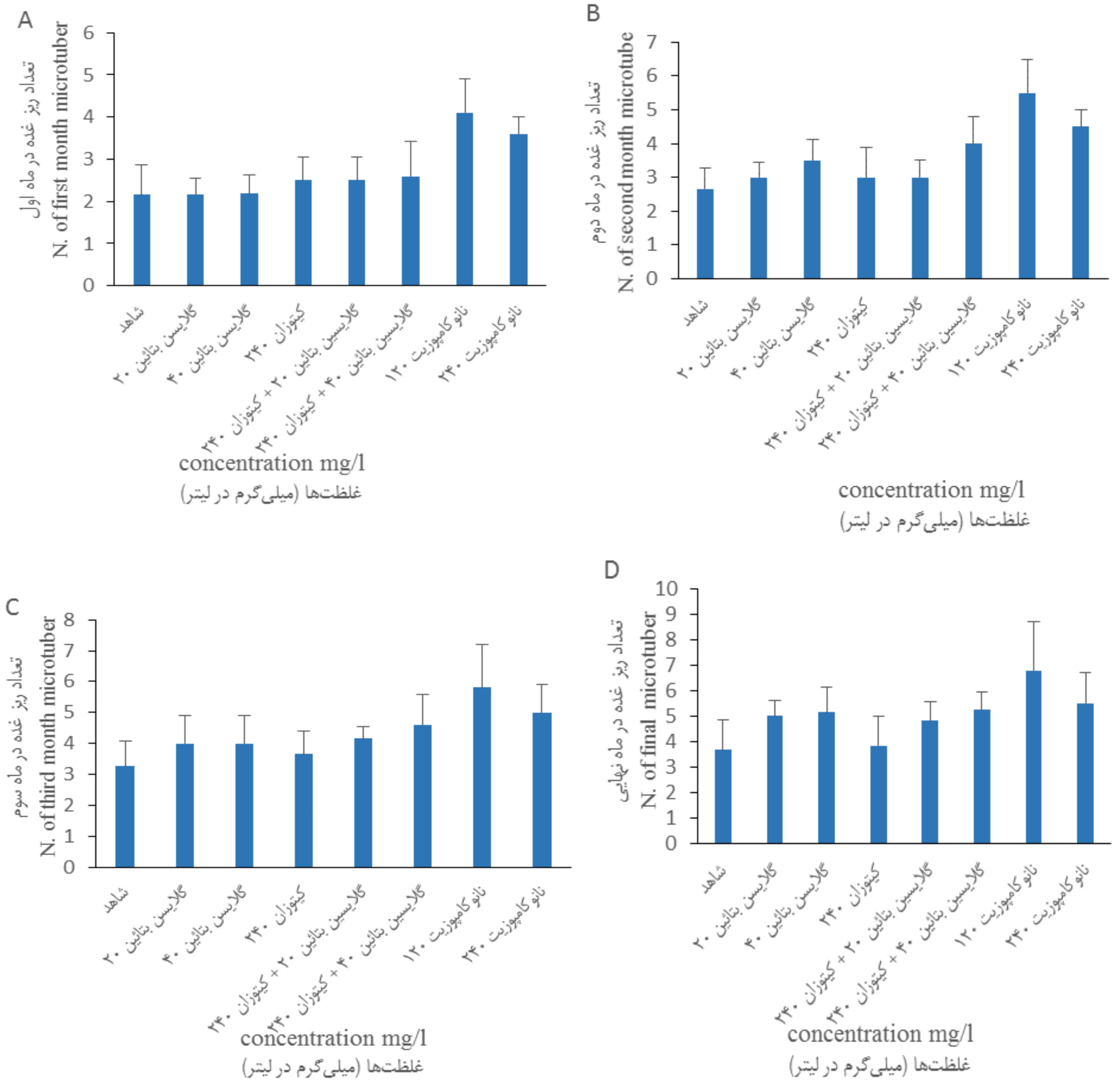
این پژوهش به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۶ تیمار در ۳ تکرار اجرا شد. فاکتور اول تیمارهای گلایسین بتائین، کیتوسان و نانوکامپوزیت گلایسین بتائین پوشش‌دار شده با کیتوسان در ۸ سطح و فاکتور دوم شوری ملایم در دو سطح شوری ملایم (۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) و بدون شوری بودند. تجزیه آماری به وسیله نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ و مقایسه میانگین با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. کلیه نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Microsoft Office Excel رسم گردید.

نتایج و بحث

تعداد ریز غده

با توجه به نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱)، برهمکنش تیمارهای استفاده شده در آزمایش و شوری ملایم در تعداد ریز غده معنی‌دار نبود ولی اثر تیمارها و شوری ملایم در تعداد ریز غده در ماه اول تا نهایی معنی‌دار شد. مقایسات میانگین به دست آمده از آزمون دانکن نشان داد که تیمار نانوکامپوزیت گلایسین بتائین پوشش‌دار شده با کیتوسان در غلظت ۱۲۰ میلی‌گرم در لیتر در صفت تعداد ریز غده در طول آزمایش از ماه اول تا ماه نهایی بیشترین تعداد ریز غده را به وجود آورد. به طوری که میانگین تعداد در ماه اول ۴/۱ و در ماه‌های دوم، سوم و چهارم به ترتیب ۵/۵، ۵/۸ و ۶/۸ بود (شکل ۱، A, B, C, D). غلظت ۲۴۰ میلی‌گرم در لیتر تیمار نانوکامپوزیت از لحاظ تعداد ریز غده در جایگاه بعدی بیشترین تعداد ریز غده قرار داشت به طوری که به غیر از ماه سوم در بقیه زمان‌ها تفاوت معنی‌داری بین این دو غلظت تیمار نانوکامپوزیت وجود نداشت. در ماه اول و سوم اندازه‌گیری صفت تعداد ریز غده در بقیه تیمارها به جز نانوکامپوزیت هیچ گونه تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۱، A,C). در تیمار گلایسین بتائین همراه با کیتوسان به غیر از ماه دوم در بقیه زمان‌ها تفاوت معنی‌داری بین غلظت‌های ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم گلایسین بتائین مشاهده نشد (شکل ۱B). با استفاده از نتایج جدول مقایسه میانگین تیمارهای شوری ملایم و بدون شوری اختلاف معنی‌داری در این دو شرایط مشاهده شد که تیمارهای با شرایط شوری ملایم باعث افزایش معنی‌داری در تعداد ریز غده در ماه‌های اول، دوم، سوم و چهارم شد. شاید بتوان چنین بیان نمود که با ایجاد شرایط شوری ملایم در ریزغده‌زایی سیب زمینی ریز نمونه‌ها با یک تنش مصنوعی مواجه می‌شوند و در مواجه با این تنش ساز وکارهایی برای مقابله فعال می‌شوند که باعث تحریک آغارش ریزغده می‌شود. با توجه به اهمیت تعداد ریز غده در کشت بافت سیب زمینی و تفاوت معنی‌دار و افزایش تقریبا ۲ برابری که بین تیمار نانوکامپوزیت و تیمار شاهد در ماه نهایی به دست آمد، لذا ضروری به نظر می‌رسد که با استفاده از ترکیبات جدید نانوکامپوزیت در کاربردهای کشت بافت به ویژه در ریز غده‌زایی سیب زمینی از این ترکیبات استفاده نموده و راندمان تعداد ریز غده را افزایش دهیم. در کشت بافت فلفل کاربرد نانوکامپوزیت اکسید روی به همراه کپسوله کردن با کیتوسان، باعث افزایش ۵۱ درصدی در کلروفیل، ۷۰ درصدی کارتنوئید و ۱۰۰ درصدی پرولین و پروتئین شد. همچنین این ترکیب نانو باعث افزایش تجمع ۶۰ درصدی آلکالوئید و ۴۰ درصدی فنول جامد در متابولیت‌های ثانویه شد (Asgari-Targhi *et al.*, 2021). اخیرا نانوذرات بر پایه کیتوسان مانند نانوذره کیتوسان روی، کیتوسان مس باعث افزایش میزان رشد و افزایش فعالیت ضد قارچی و باکتریایی در گیاهان مختلف شده است

(Kim *et al*., 2017). استفاده از دو نانوذره نیترات نقره و دی اکسید تیتانیوم در میزان رشد و ریزغده‌زایی سه رقم سیب زمینی باعث تفاوت معنی‌داری در تعداد ریز غده، وزن تر و خشک و ارتفاع گیاهچه شد. به طوری که در تیمار ۲ میلی‌گرم در لیتر نانو ذره تیتانیوم تعداد ۲/۴۸ ریز غده به دست آمد که نسبت به تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری را نشان داده بود (Al-Jibouri *et al*., 2017).



شکل ۱- متوسط تعداد ریز غده سیب زمینی رقم 'آگریا' در تیمارهای کیتوسان، گلایسین بتائین و نانوکامپوزیت گلایسین بتائین پوشش‌دار شده با کیتوسان در ماه اول (A)، ماه دوم (B)، ماه سوم (C) و تعداد ریز غده نهایی(D)

(بارهای نمودار نشان‌دهنده انحراف معیار است) $P \leq 0.05$

Figure 1- The average number of microtuber of potato cv. 'Agria' treated by chitosan, glycine betaine and nano composite coated glycine betaine in the first month (A), the second month (B), the third month (C) and the number of fourth month microtuber (D)

(The graph bars indicate standard deviation) (DMRT,$p \leq 0.05$)

جدول ۱- تجزیه واریانس تاثیر شوری ملایم و تیمارهای ریز غده‌زایی صفات مورفولوژی سیب زمینی رقم 'آگریا'

Table 1- ANOVA for the effect of moderate salinity and microtuberization treatment on morphological traits of potato microtubers cv. 'Agria'

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی						میانگین مربعات Mean squares						
		تعداد ریز غده ماه اول No. of first month microtuber	تعداد ریز غده ماه دوم No. of second month microtube	تعداد ریز غده ماه سوم No. of third month microtuber	تعداد ریز غده نهایی No. of final microtuber	تعداد استولون No. of stolon	طول استولون Stolon length	تعداد چشم در ریز غده No. of eye in microtuber	ریز غده جوانه زده Microtuber sprout	شاخه‌شد غده یافته‌روی Shoot on microtuber	قطر ریز غده Microtuber diameter	وزن ریز غده Microtuber weigth	عملکرد ریز غده Microtuber yield
شوری ملایم Moderate salinity	1	8.33**	2.33*	3.85*	3.53*	0.32ns	101.58ns	28.7*	1.123**	64.099ns	1.11ns	3.67ns	1989.18ns
تیمار Treatment	7	3.84**	5.81**	4.57**	5.85**	8.37**	900.66**	3.57ns	0.779*	169.261ns	1.91*	27.7*	2064.54*
شوری ملایم × تیمار Moderate ×salinity Treatment	7	0.28ns	0.43ns	0.44ns	0.52ns	2.01ns	183.07ns	3.22ns	0.371ns	40.5ns	1.38ns	4.7ns	308.8ns
خطا Eror	32	0.458	0.771	1.12	1.56	1.89	141.7	2.7	0.214	64.8	0.493	8.3	700.45
ضریب تغییرات C.V (%)		24.48	2327.	21.24	25.29	43.1	76.6	39.12	34.32	27.2	17.9	37.8	26.45

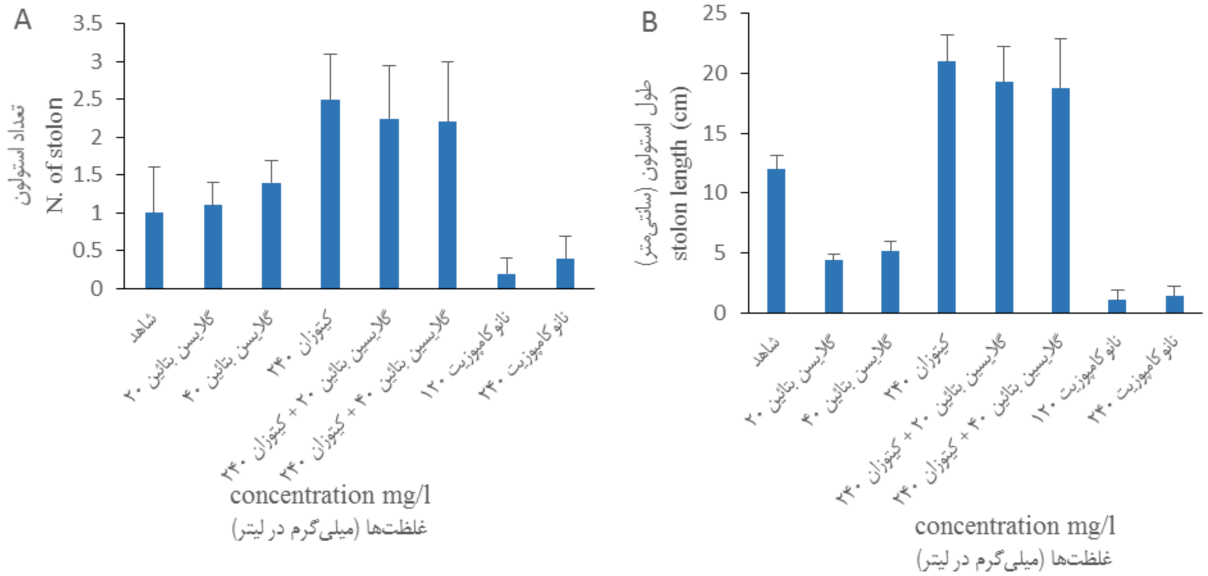
**، * و ns به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و عدم معنی‌داری

ns, ** and *: non-significant, and significant at $p\leq0.01$ and $p\leq0.05$, respectively.

تعداد و طول استولون

بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۱)، برهمکنش اثرات شوری ملایم و تیمارهای نانوکامپوزیت در تعداد و طول استولون معنی‌دار نشد. همچنین اثر شوری ملایم نیز در هر دو صفت فوق معنی‌دار نبود ولی اثر تیمارهای نانوکامپوزیت برای تعداد و طول استولون در سطح احتمال یک درصد معنی‌داری را نشان داد. بر اساس نتایج شکل ۲ به دست آمده از مقایسات میانگین، تیمارهای نانوکامپوزیت در هر دو غلظت نسبت به بقیه تیمارها تعداد و طول استولون کمتری را داشتند، به طوری‌که تیمار نانوکامپوزیت با غلظت ۱۲۰ میلی‌گرم در لیتر با میانگین طول ۰/۲ سانتی‌متر و تعداد ۱/۱ استولون کمترین طول و تعداد استولون را در مرحله ریزغده‌زایی از خود نشان دادند. همچنین تیمارهای کیتوسان ۲۴۰ میلی‌گرم در لیتر و گلایسین بتائین ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم در لیتر بیشترین تعداد و طول استولون را ثبت کردند و هیچ اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند. با توجه به اینکه در میان هورمون‌های گیاهی اسید جیبرلیک بیشترین نقش را در ریزغده‌زایی سیب زمینی دارد و نقش آن به عنوان محرک توسعه استولون بوده و از ریز غده‌زایی جلوگیری می‌کند (Macháčková *et al.*, 1998)، و از سوی دیگر این احتمال وجود دارد که کیتوسان تولید هورمون گیاهی اسید جیبرلیک را در گیاه افزایش می‌دهد که در مطالعه‌ای که اخیرا از نانوذره کیتوسان-آلژینات که به عنوان نانوحامل[1] در گیاه لوبیا استفاده شد در پایان آزمایش این نانوذره کیتوسان به عنوان سیستم حامل برای تولید اسید جیبرلیک شناخته شد (Santo Pereira *et al.*, 2017)، با توجه به این تفاسیر استفاده از کیتوسان به شکل نانوکامپوزیت مرحله ریزغده‌زایی را سمت تولید استولون کمتر و ریز غده بیشتر سوق داد و اثرات منفی کیتوسان در جلوگیری از ریزغده‌زایی را کاهش داد. در مطالعه‌ای انجام شده با استفاده از پاکلوبوترازول که به عنوان ترکیب کاهش دهنده سنتز اسید جیبرلیک شناخته می‌شود در تولید مینی‌تیوبر سیب زمینی رقم سانته انجام شد و اثر محلول‌پاشی برگی این ترکیب سبب کاهش طول استولون شد (Dashti *et al.*, 2013). در پژوهشی دیگر محلول پاشی برگی پاکلوبوترازول در غلظت ۴۵۰ میلی‌گرم در لیتر در اوایل استولون‌دهی سیب زمینی تعداد ریز غده‌ها را دو برابر نمود ولی تاثیری در عملکرد کل ایجاد نکرد (Bandara and Tanino, 1995). با توجه به شناخته شدن نقش هورمون جیبرلیک اسید در استولون‌دهی سیب زمینی و بررسی نتایج حاصل از این آزمایش، بتوان این فرضیه را محتمل دانست که استفاده از ترکیبات نانوکامپوزیت کیتوسان‌دار هیچ گونه نقش تحریک‌کنندگی در تولید استولون نداشته باشد و برای بررسی بیشتر فیزیولوژیکی، باید رابطه استولون‌دهی و ترکیبات نانوکامپوزیت کیتوسان و کیتوسان معمولی با میزان سنتز جیبرلیک اسید آشکار گردد.

1- nanocarriers



شکل ۲- تعداد استولون (A) و طول استولون (B) سیب زمینی رقم 'آگریا' درتیمارهای کیتوسان، گلایسین بتائین و نانوکامپوزیت گلایسین بتائین پوشش‌دار شده با کیتوسان

$P \leq 0.05$ (بارهای نمودار نشان‌دهنده انحراف معیار است)

Figure 2- Stolon number (A) and stolon length (B) of potato cv. 'Agria" in chitosan, glycine betaine and coated nano-composite glycine-betaine treatments

(The graph bars indicate standard deviation) (DMRT,*p ≤0.05*)

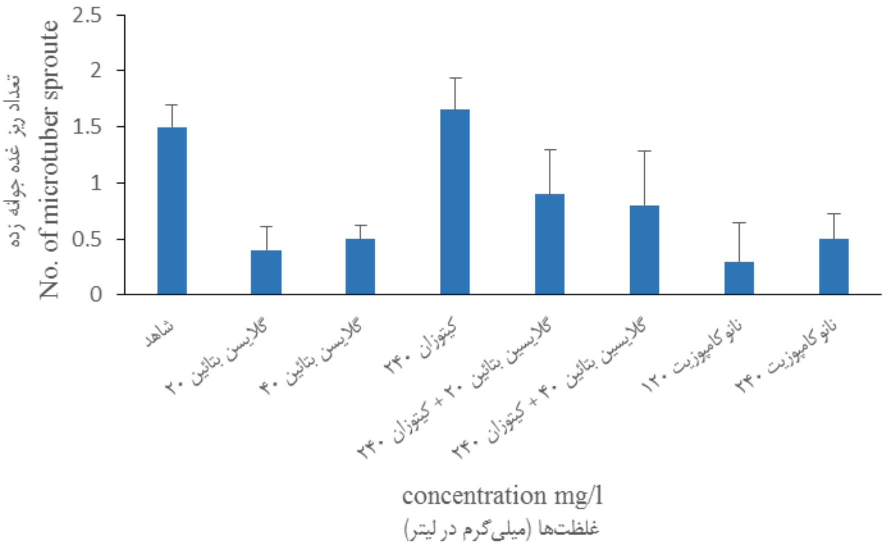
ریز غده جوانه زده

در این پژوهش مشاهده شد که اثرات شوری ملایم و ترکیبات تیماری در این صفت معنی‌دار شدند ولی برهمکنش این اثرات با توجه به جدول تجزیه واریانس معنی‌داری را نشان نداد (جدول ۱). در این پژوهش تمامی ریز غده‌های تولید شده بدون دوره رکود بودند و با توجه به شکل ۳ تمامی تیمارها دارای ریز غده جوانه زده بودند که در این میان تیمار نانوکامپوزیت ۱۲۰ میلی‌گرم در لیتر با ۰/۳ ریز غده جوانه زده کمترین ریز غده جوانه زده را داشت (شکل ۳). تیمارهایی دارای ترکیبات تعدیل دهنده تنش بودن مانند گلایسین بتائین و گلایسین بتائین همراه با کیتوسان جوانه‌زنی ریز غده را کاهش دادند که یک مزیت خوب برای ریز غده‌زایی درون شیشه‌ای سیب زمینی می‌باشد که در بحث انبارداری و حمل و نقل ریز غده یک عامل مثبت است. در این میان عوامل کاهنده اثرات تنش به صورت ترکیبات نانوکامپوزیت می‌تواند جوانه زنی درون شیشه‌ای را کاهش دهد و آسیب‌های در حین برداشت و انتقال ریز غده‌ها به شدت کاهش پیدا می‌کند. در مقایسه ریز غده جوانه زده در شرایط شوری و با شوری ملایم اختلاف معنی‌داری بین این دو به وجود آمد که در شرایط شوری ملایم ریز غده جوانه زده بیشتری نسبت به شرایط بدون شوری به دست آمد (جدول ۲).

قطر ریز غده

با توجه به نتایج تجزیه واریانس در قطر ریز غده، اثر شوری و برهمکنش شوری ملایم با تیمارهای آزمایش معنی‌دار نشد ولی اثر تیمارهای نانوکامپوزیت در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). اختلاف زیادی در قطر ریز غده‌ها در تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد و کمترین قطر ریز غده مربوط به تیمار شاهد با ۲/۸ میلی‌متر و بیشترین با ۴/۳۵ مربوط به تیمار نانوکامپوزیت ۱۲۰ میلی‌گرم در لیتر بود (شکل ۴). در بررسی که توسط (Garkeroodi *et al*., 2016) انجام شد کمترین میزان طول و قطر ریز غده مربوط به تیمار شاهد بود و بین تیمار شاهد با سایر تیمارها نیز تفاوت چشمگیری مشاهده نشد. در بررسی صورت گرفته توسط (Mulugeta Diro, 2014) سطوح مختلف ساکارز (۴۰، ۶۰، ۸۰، ۱۰۰ و ۱۲۰ گرم در لیتر) بر قطر ریز غده دو رقم سیب زمینی نشان داد که در غلظت ۶۰ گرم در لیتر ساکارز بیشترین اثر مثبت را در ریز غده‌زایی سیب زمینی داشت به طوری که بیشترین قطر ریز غده ۳/۶۰ میلی‌متر بود. با توجه به اینکه در بیشتر پژوهش‌های صورت گرفته در ریزغده‌زایی سیب زمینی نقش ساکارز در قطر ریز غده برجسته بوده است (Fatima *et al*., 2005) لذا با توجه به داده‌های این آزمایش و تطابق با نتایج محققین دیگر، این فرضیه را می‌توان مطرح نمود که با کاربرد ساکارز بیشتر در محیط کشت یک تنش اسمزی مثبتی ایجاد شده که با استفاده از

تیمارهای تعدیل دهنده تنش مانند گلایسین بتائین و کیتوسان با هم و همچنین به شکل نانوکامپوزیت منجر به افزایش جذب آب و مواد غذایی شده و در نهایت باعث افزایش قطر ریز غده می‌شود.



شکل ۳- تاثیر تیمارهای کیتوسان، گلایسین بتائین و نانوکامپوزیت گلایسین بتائین پوشش‌دار شده بر تعداد ریز غده جوانه زده سیب زمینی رقم 'آگریا'

(بارهای نمودار نشان‌دهنده انحراف معیار است) P≤0.05

Figure 3- The effect of chitosan, glycine betaine and coated nano-composite glycine betaine treatments on number of sprout micoruber of potato cv. 'Agria''

(The graph bars indicate standard deviation) (DMRT,*p ≤0.05)*

جدول ۲- تاثیر سطوح شوری بر برخی صفات ریزغده سیب زمینی رقم 'آگریا'

Table 2- Theeffect of salinity levels on some microtuber traits of potato cv. 'Agria'

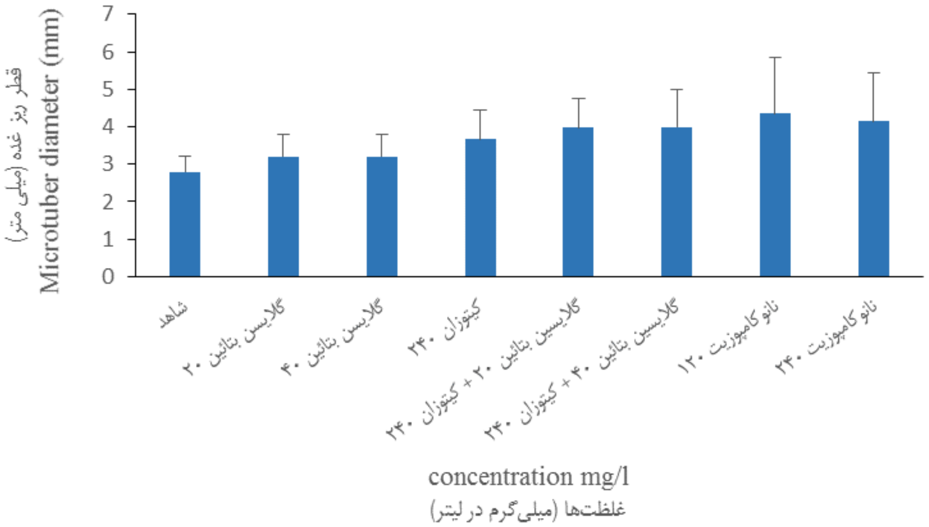
NaCl	میانگین صفات **Mean squares**					
	تعداد ریزغده ماه اول No. of first month microtuber	تعداد ریزغده ماه دوم No. of second month microtube	تعداد ریزغده ماه سوم No. of third month microtuber	تعداد ریزغده ماه چهارم No. of fourth month microtuber	تعداد چشم در غده No. of eye	ریز غده جوانه زده Microtuber sprout
بدون شوری Without salinity	2.29± 0.75^{b}	3.21± 0.8^{b}	4.16± 1.16^{b}	4.53± 1.3^{b}	3.46± 1.4^{b}	1.13± 0.21^{b}
با شوری ملایم With moderate salinity	3.12± 0.85^{a}	3.75± 0.96^{a}	4.8± 1.28^{a}	5.167± 1.5^{a}	5.15± 2^{a}	1.36± 0.29^{a}

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means followed by the same letter within each column shows no significant differences at 5% of probability level based on Duncan's multiple range test.

متوسط وزن ریز غده

نتایج تجزیه واریانس مشاهده شده در متوسط ریز غده نشان داد که اثر شوری و برهمکنش شوری ملایم با تیمارهای آزمایش معنی‌دار نشد ولی اثر تیمارهای نانوکامپوزیت در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). با توجه به ارتباط مثبتی که بین صفات قطر ریزغده و وزن ریز غده وجود دارد نتایج مقایسات میانگین متوسط وزن ریز غده به دست آمده از شکل ۵ این همبستگی را به طور آشکار نشان می‌دهد به طوری‌که بیشترین متوسط وزن ریزغده مربوط به تیمار نانوکامپوزیت ۱۲۰ میلی‌گرم در لیتر با وزن ۲۹ میلی‌گرم می‌باشد



شکل ٤- تاثیر تیمارهای کیتوسان، گلایسین بتائین و نانوکامپوزیت گلایسین بتائین پوشش‌دار شده بر قطر ریز غده (میلی‌گرم) سیب زمینی رقم آگریا

$P \leq 0.05$ (بارهای نمودار نشان‌دهنده انحراف معیار است)

Figure 4- Effect of chitosan, glycine betaine and nano composite coated glycine betaine treatments on microtuber diameter (mg)

(The graph bars indicate standard deviation) (DMRT, $p \leq 0.05$)

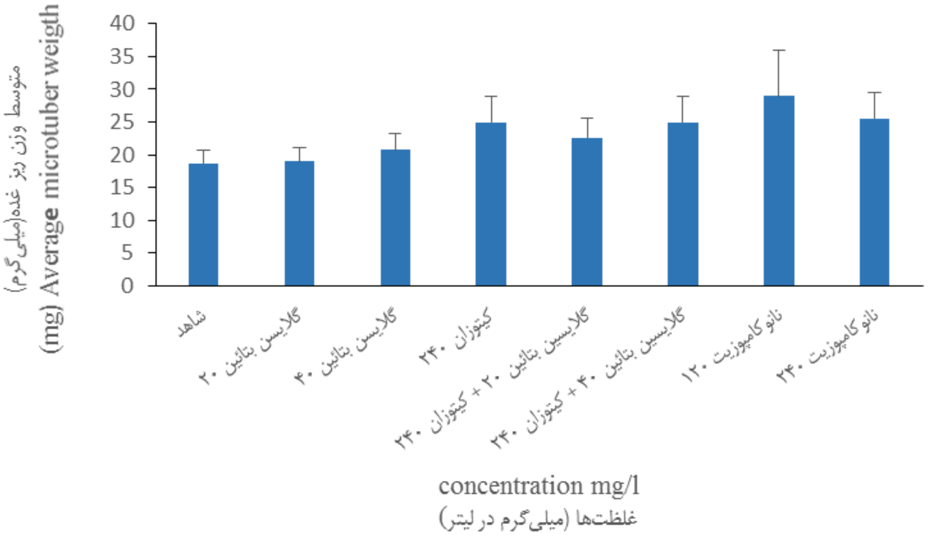
در قطر ریزغده نیز این تیمار بیشترین مقدار را دارا بود، همچنین با تیمار شاهد و تیمارهای گلایسین بتائین ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم در لیتر اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهد. در بررسی تقریبا مشابه با این آزمایش، با استفاده از نانوذره کبالت در ریز ازدیادی و تشکیل ریزغده سیب زمینی رقم سانتانا[1] مورد بررسی قرار گرفت و نتایج آزمایش پس از ۶۰ روز نشان داد که در ترکیب محیط کشت MS همراه با ۸۰ گرم در لیتر ساکارز و ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر نانوذره کبالت بیشترین اندازه و وزن ریزغده به دست آمد (Hamza, 2019). به نظر می‌رسد با استفاده از ترکیبات کاهش دهنده تنش مانند گلایسین بتائین و کیتوسان و نانوکامپوزیت این مواد، میزان ژن‌های مسئول تشکیل ریزغده افزایش می‌یابد و در نتیجه افزایش پروتئین‌های درگیر در تنش‌ها باعث القای ریزغده‌زایی بیشتر می‌شود (Kwak *et al*., 2019 ; Guru *et al*., 2021). همچنین شاید با استفاده از مواد نانوکامپوزیت میزان بیشتری از مواد آسیمیلاته از سمت ریشه به فرآیندهای ریزغده‌زایی انتقال پیدا می‌کنند (Yu *et al*., 2021).

عملکرد ریز غده

نتایج تجزیه واریانس جدول ۱ از عدم معنی‌داری اثر شوری ملایم و برهمکنش شوری ملایم و تیمارهای آزمایش حکایت دارد و اثر ساده تیمارهای آزمایش در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار است. با توجه به اینکه مهمترین صفت در بحث ریزغده‌زایی سیب زمینی عملکرد ریز غده می‌باشد لذا در آزمایش انجام گرفته بیشترین عملکرد ریز غده مربوط به تیمار نانوکامپوزیت با ۱۳۱ میلی‌گرم و کمترین آن در تیمار شاهد با ۸۷ میلی‌گرم به دست آمد (شکل ۶). مقایسه عملکرد ریز غده با سایر صفات اندازه‌گیری شده مشخص نمود که در داده برداری صورت گرفته در طول آزمایش تیمارهای نانوکامپوزیت به خصوص غلظت ۱۲۰ میلی‌گرم در لیتر دارای اثرات مثبت و تاثیرگذار بیشتری در ریزغده‌زایی دارد. شاید دلیل قانع کننده برای نتایج به دست آمده از آزمایش ما چنین بتوان توجیه نمود که کیتوسان نیز به عنوان یک محرک زیستی با عملکرد ضدتعرقی خود می تواند به بسته شدن روزنه و کاهش هدر رفتن آب از سطح برگ کمک کند که این عمل کیتوسان را می توان به دخالت آن در مسیرهای ABA نسبت داد (Willmer and Fricker, 1996) و این امر با توجه به نتایج حاصل شده از تاثیر تنظیم کننده‌های رشد منجر به این فرضیه می‌شود که شاید استفاده از ترکیبات نانو بر پایه کیتوسان باعث شود که محرک ریزغده‌زایی در نقش یک ماده بازدارنده طبیعی جیبرلیک

1- santana

اسید و یا یک ماده ضد جیبرلیک اسید نقش ایفا می‌کنـد (Yagiz *et al*., 2020). با توجه به اینکه ماده محرک ریزغده‌زایی به احتمال زیاد حالت متوازن و ویژه‌ای از یک یا چند ترکیب می‌باشد لذا شـاید بتـوان چنین توجیه نمود که استفاده از این ترکیبات جدیـد در کنـار شـوری ملایم باعث تحریک بیشتر غده‌زایی می‌شوند.

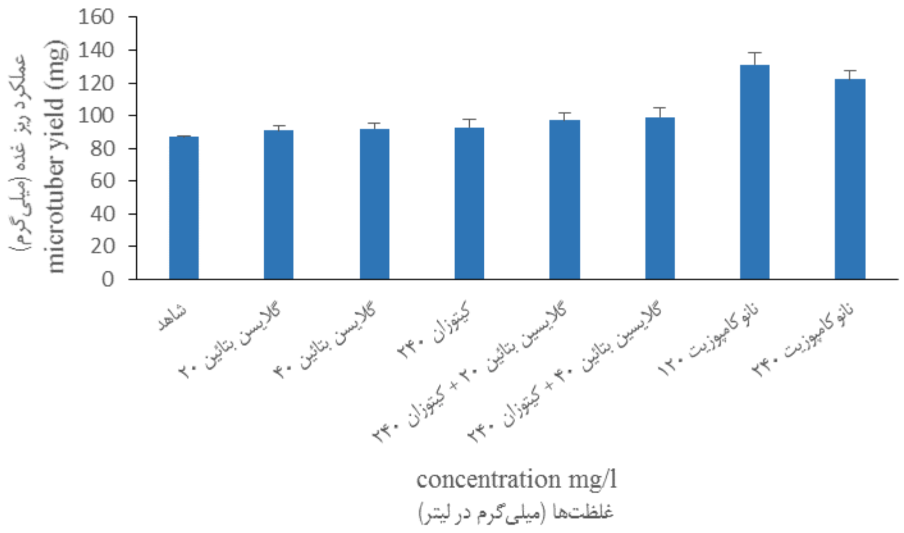


شکل ۵- تاثیر تیمارهای کیتوسان، گلایسین بتائین و نانوکامپوزیت گلایسین بتائین پوشش‌دار شده بر متوسط وزن ریز غده سیب زمینی رقم 'آگریا'

$P \leq 0.05$ (بارهای نمودار نشان‌دهنده انحراف معیار است)

Figure 5- Effect of chitosan, glycine betaine and Nano composite coated glycine betaine treatments on average weight microtuber

(The graph bars indicate standard deviation) (DMRT,*p ≤0.05)*

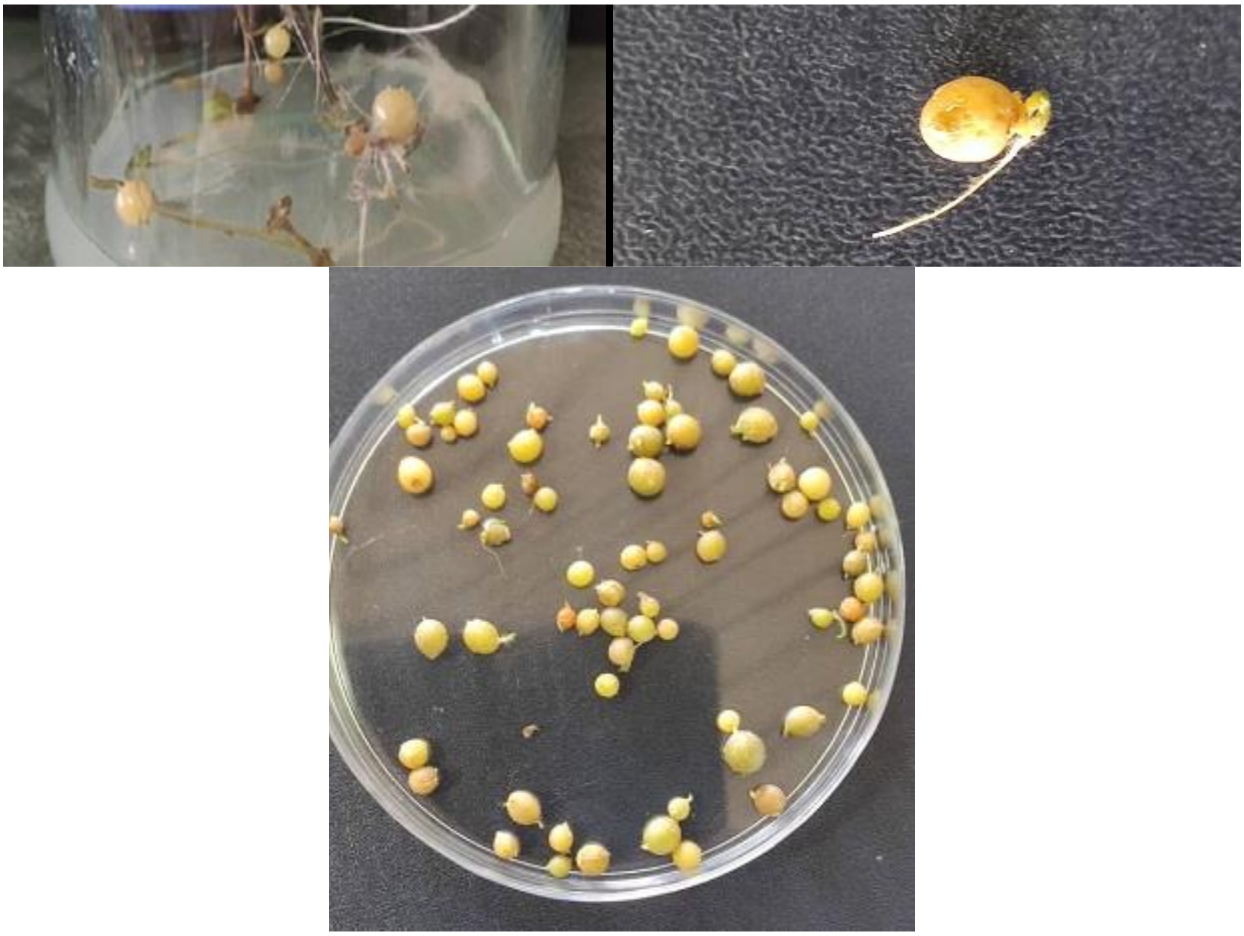


شکل ٦- تاثیر تیمارهای کیتوسان، گلایسین بتائین و نانوکامپوزیت گلایسین بتائین پوشش‌دار شده بر عملکرد ریز غده سیب زمینی رقم 'آگریا'

$P \leq 0.05$ (بارهای نمودار نشان‌دهنده انحراف معیار است)

Figure 6- Effect of chitosan, glycine betaine and Nano composite coated glycine betaine treatments on microtuber yield (mg)

(The graph bars indicate standard deviation) (DMRT,*p ≤0.05)*



شکل ۷- ریز غده تولید شده در ماه اول (بالا سمت چپ)، ریز غده جوانه زده (بالا سمت راست) و تعداد کل ریز غده تولید شده (پایین) در تیمار نانوکامپوزیت غلظت ۱۲۰ میلی‌گرم در لیتر در سیب زمینی رقم 'آگریا'

Figure 7- Microtubers produced in the first month (top left) microtuber sprout (top right) and total number of microtubers produced in 120 mg.l^{-1} Nano composite treatment (bottom) in potato cv. 'Agria'

نتیجه‌گیری

در این آزمایش نانوکامپوزیت گلایسین بتائین پوشش‌دار شـده بـا کیتوسان به طور موفقیت آمیز سنتز شد و با توجه به نتایج بـه دسـت آمده می تواند در کشت بافت گیاهی و ریز غده‌زایـی درون شیشـه‌ای مورد استفاده قرار گیرد. در زمینه ریز غده‌زایی سیب زمینی اسـتفاده از ترکیب نانوکامپوزیت افزایش معنی‌داری در تعداد ریز غده‌ها نسبت بـه شاهد مشاهده شد که این افزایش در مراحل آخر ریز غده‌زایی به طور محسوس اثر خود را بروز داد. همچنین استفاده از شوری ملایم همراه با ترکیبات تیماری نانوکامپوزیت بر پایه کیتوسان برای تحریـک ریـز غده‌زایی موثر می‌باشد که اسـتفاده از ایـن مکانیسـم باعـث افـزایش عملکرد ریز غده‌ها و در نتیجه افزایش شاخص برداشت شد. بر اساس نتایج به دست آمده از این آزمـایش، غلظـت ۱۲۰ میلـی‌گـرم در لیتـر نانوکامپوزیت گلایسین بتائین پوشش‌دار شده با کیتوسـان بـرای ریـز غده‌زایی سیب زمینی غلظت مناسب‌تری می‌باشد.

منابع

1. Abedini, M., Motallebi Azar, A., Zaare Nahandi, F., & Gohari, G. (2020). Application of pectin-tagged nano silver and triacontanol on in vitro microruberization of *Solanum tuberosum* L. cv. Agria. *Journal of Vegetables Sciences*, *4*(1), 57–70.
2. Akbari, A., Jafari, H., Gohari, G., Kheiri, G., & Mahdavinia, G. R. (2021). Fulvic acid-embedded poly (vinyl alcohol)–zinc oxide hydrogel nanocomposite: synthesis, characterization, swelling and release kinetic. *International Nano Letters*, *11*(4), 347–354.
3. Al-Jibouri, A.M.J., Abed, A.S., Hussin, Z.S., & Abdulhusein, A.A. (2017). Effect of nanoparticles on in vitro

microtuberization of potato cultivars (*Solanum tuberosum* L.). *Journal of Biotechnology Research Center*, *11*(1), 57–61.

4. Asgari-targhi, G., Iranbakhsh, A., Oraghi, Z., & Hatami, A. (2021). Synthesis and characterization of chitosan encapsulated zinc oxide (ZnO) nanocomposite and its biological assessment in pepper (*Capsicum annuum*) as an elicitor for in vitro tissue culture applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, *189*, 170–182. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.08.117
5. Ashraf, M., & Foolad, M.R. (2007). Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany*, *59*(2), 206–216.
6. Bandara, P.M.S., & Tanino, K.K. (1995). Paclobutrazol enhances minituber production in Norland potatoes. *Journal of Plant Growth Regulation*, *14*(3), 151–155.
7. Borna, R.S., Hoque, M., & Sarker, R. (2019). In vitro microtuber induction and regeneration of plantlets from microtuber discs of cultivated potato (*Solanum tuberosum* L.). *Plant Tissue Culture and Biotechnology*, *29*(1), 63–72. https://doi.org/10.3329/ptcb.v29i1.41979
8. Castiglioni, P., Bell, E., Lund, A., Rosenberg, A.F., Galligan, M., Hinchey, B.S., Bauer, S., Nelson, D.E., & Bensen, R.J. (2018). Identification of GB1, a gene whose constitutive overexpression increases glycinebetaine content in maize and soybean. *Plant Direct*, *2*(2), e00040.
9. Chibu, H. (2000). *Effects of chitosan applications on the growth of several crops*. *5*(3), 182.
10. Dashti, F., Parvizi, K., Ashraf, H., Chaeichi, M.R., & Esna Ashari, M. (2013). Effects of different concentrations of paclobutrazul and plantlet density on minituber production in potato cv. Sante. *Iranian Journal of Horticultural Science*, *44*(1), 11-20.
11. Demiral, T., & Türkan, I. (2004). Does exogenous glycinebetaine affect antioxidative system of rice seedlings under NaCl treatment? *Journal of Plant Physiology*, *161*(10), 1089–1100.
12. Donnelly, D.J., Coleman, W.K., & Coleman, S.E. (2003). Potato microtuber production and performance: a review. *American Journal of Potato Research*, *80*(2), 103–115.
13. Fatima, B., Usman, M.U.H.A.M.M.A.D., Ahmad, I.M.T.I.A.Z., & Khan, I.A. (2005). Effect of explant and sucrose on microtuber induction in potato cultivars. *International Journal of Agriculture and Biology*, *7*(1), 63-66.
14. Garkeroodi, P.G., Zaare-Nahandi, F., Azar, A.M., Panahandeh, J., & Dadpour, M.R. (2016). Optimization of in vitro microtuberization of potato (*Solanum tuberosum* L. cv. Agria) using paclobutrazole and uniconazol. *Iranian Journal of Horticultural Science*, *47*(2).
15. Gohari, G., Zareei, E., Kulak, M., Labib, P., Mahmoudi, R., Panahirad, S., Jafari, H., Mahdavinia, G., Juárez-Maldonado, A., & Lorenzo, J.M. (2021). Improving the berry quality and antioxidant potential of flame seedless grapes by foliar application of chitosan–phenylalanine nanocomposites (CS–Phe NCs). *Nanomaterials*, *11*(9), 2287.
16. Guru, A., Dwivedi, P., Kaur, P., & Pandey, D.K. (2021). Exploring the role of elicitors in enhancing medicinal values of plants under in vitro condition. *South African Journal of Botany*.
17. Hamza, E.M. (2019). Improvement of potato micropropagation and microtubers formation as affected by nanoparticles. *Middle East Journal of Agriculture Research*, *08*(02), 525–532.
18. Hidangmayum, A., Dwivedi, P., Katiyar, D., & Hemantaranjan, A. (2019). Application of chitosan on plant responses with special reference to abiotic stress. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, *25*(2), 313–326.
19. Jianglian, D., & Shaoying, Z. (2013). Application of chitosan based coating in fruit and vegetable preservation: a review. *Journal Food Processing Technology*, *4*(5), 227.
20. Kim, D.H., Gopal, J., & Sivanesan, I. (2017). Nanomaterials in plant tissue culture: The disclosed and undisclosed. *RSC Advances*, *7*(58), 36492–36505. https://doi.org/10.1039/c7ra07025j
21. Kumar, V., Shriram, V., Hoque, T. S., Hasan, M., Burritt, D.J., & Hossain, M. A. (2017). Glycinebetaine-mediated abiotic oxidative-stress tolerance in plants: physiological and biochemical mechanisms. In *Stress Signaling in Plants: Genomics and Proteomics Perspective*, *2*, 111–133.
22. Kwak, S.Y., Lew, T.T.S., Sweeney, C.J., Koman, V.B., Wong, M.H., Bohmert-Tatarev, K., & Strano, M.S. (2019). Chloroplast-selective gene delivery and expression in planta using chitosan-complexed single-walled carbon nanotube carriers. *Nature Nanotechnology*, *14*(5), 447-455.
23. Macháčková, I., Konstantinova, T.N., Sergeeva, L.I., Lozhnikova, V.N., Golyanovskaya, S.A., Dudko, N.D., Eder, J., & Aksenova, N.P. (1998). Photoperiodic control of growth, development and phytohormone balance in *Solanum tuberosum*. *Physiologia Plantarum*, *102*(2), 272–278.
24. Mahmoudi, R., Razavi, F., Rabiei, V., Gohari, G., & Palou, L. (2022). Application of Glycine betaine coated chitosan nanoparticles alleviate chilling injury and maintain quality of plum (*Prunus domestica* L.) fruit. *International Journal of Biological Macromolecules*, *207*, 965–977.
25. Malerba, M., & Cerana, R. (2020). Chitin- and chitosan-based derivatives in plant protection against biotic and abiotic stresses and in recovery of contaminated soil and water. *Polysaccharides*, *1*(1), 21–30. https://doi.org/10.3390/polysaccharides1010003
26. Mamiya, K., Tanabe, K., & Onishi, N. (2020). Production of potato (*Solanum tuberosum* L.) microtubers using

plastic culture bags. *Plant Biotechnology*, *37*(2), 233–238. https://doi.org/10.5511/PLANTBIOTECHNOLOGY.20.0312A

27. Meena, M., Pilania, S., Pal, A., Mandhania, S., Bhushan, B., Kumar, S., Gohari, G., & Saharan, V. (2020). Cu-chitosan nano-net improves keeping quality of tomato by modulating physio-biochemical responses. *Scientific Reports*, *10*(1), 1–11.
28. Mulugeta Diro, M.F. (2014). Microtuber induction of two potato (*Solanum tuberosum* L.) varieties. *Advances in Crop Science and Technology*, *02*(02), 2–4. https://doi.org/10.4172/2329-8863.1000122
29. Sadawarti, M.J., Pandey, K.K., Singh, B.P., & Samadiya, R.K. (2016). A review on potato microtuber storability and dormancy. *Journal of Applied and Natural Science*, *8*(4), 2319-2324.
30. Saharan, V., & Pal, A. (2016). Current and future prospects of chitosan-based nanomaterials in plant protection and growth. In *Chitosan Based Nanomaterials in Plant Growth and Protection* (pp. 43–48). Springer.
31. Santo Pereira, A.E., Silva, P.M., Oliveira, J.L., Oliveira, H.C., & Fraceto, L.F. (2017). Chitosan nanoparticles as carrier systems for the plant growth hormone gibberellic acid. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, *150*, 141-152.
32. Shouqiang, O., & Langlai, X. (2003). Effects of chitosan on nutrient qualities and some agronomic characters of non-heading Chinese cabbage. *Plant Physiology Communications*, *39*(1), 21–24.
33. Willmer, C., & Fricker, M. (1996). *Stomata* (Vol. 2). Springer Science & Business Media.
34. Yagiz, A.K., Yavuz, C., Tarim, C., Demirel, U., & Caliskan, M.E. (2020). Effects of growth regulators, media and explant types on microtuberization of potato. *American Journal of Potato Research*, *97*(5), 523-530.
35. Yu, J., Wang, D., Geetha, N., Khawar, K.M., Jogaiah, S., & Mujtaba, M. (2021). Current trends and challenges in the synthesis and applications of chitosan-based nanocomposites for plants: A review. *Carbohydrate Polymers*, *261*, 117904.

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

CC BY

Research Article
Vol. 37, No. 2, Summer 2023, p. 453-465

The Effect of Mycorrhizal Fungus (*Piriformospora indica*) on the Morphological, Physiological and Biochemical Traits of the Medicinal Plant Stevia (*Stevia rebaudiana*) under Drought Stress

E. Nabizadeh[1]*, M. Haghshenas[2], K. Ahmadi[3]

Received: 20-05-2022 Revised: 30-07-2022 Accepted: 01-09-2022 Available Online: 01-09-2022	**How to cite this article:** Nabizadeh, E., Haghshenas, M., & Ahmadi, K. (2023). The effect of mycorrhizal fungus (*Piriformospora indica*) on the morphological, physiological and biochemical traits of the medicinal plant Stevia (*Stevia rebaudiana*) under drought stress. *Journal of Horticultural Science*, *37*(2), 453-465. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jhs.2022.75337.1173

Introduction

Stevia (*Stevia rebaudiana*) is one of the medicinal plants of the Asteraceae family that contains natural compounds, especially stevioside and ribaodioside A, which are estimated to be 150 to 400 times sweeter than sucrose. Plants are exposed to various environmental stresses during growth and development under natural and agricultural conditions. Among these, drought is one the most severe environmental stresses affecting plant productivity. About 80–95% of the fresh biomass of the plant body is comprised of water, which plays a vital role in various physiological processes including many aspects of plant growth, development, and metabolism. Stevia is susceptible to various environmental stresses but the major effects are contributed by drought. Today, the fungal species *Stevia rebaudiana* is used as a biofertilizer and increases the production of secondary metabolites of economically valuable plants and also increases the growth and seed production of many plants. This fungal endophyte produces a significant amount of acid phosphatase for mobility in a wide range of insoluble or complex forms of phosphate, enabling the host plant to have adequate access to inactive phosphorus reserves in the soil. However, medicinal plants that are cultivated have often been reported to have lower abundance of arbuscular mycorrhizal fungi in the rhizosphere, which significantly reduces plant survival. Considering the coexistence role of mycorrhizal fungi in modulating the effects of drought stress, the aim of this study was to investigate the morphological, physiological and biochemical traits of stevia in response to the effects of mycorrhizal inoculation and drought stress.

Materials and Methods

This experiment was conducted to investigate the effect of *P. indica* endophytic fungus under water stress conditions on vegetative characteristics, physiological parameters and micronutrients of stevia. A factorial experiment was employed based a completely randomized design with four replications in the research greenhouse of Islamic Azad University, Mahabad Branch in 2017. The first factor was drought stress at four levels (25, 45, 60 and 80% of field capacity) and the second factor was inoculation of seedlings with fungus at two levels (no inoculation and inoculation with *P. indica*). Water stress was applied based on a combination of plant appearance symptoms (no wilting to severe wilting) and soil moisture. Investigated traits included root colonization, dry weight, leaf number, plant height, stem diameter, chlorophyll a, b, total chlorophyll, carotenoids, proline, soluble sugars, antioxidant power and micronutrients including copper, iron, zinc and manganese. To analyze the data variance, SAS 9.1 statistical software was used to analyze the variance of the

1- Associate Professor, Department of Agrothechnology, Faculty of Agricultural, Islamic Azad University, Mahabad Branch, Mahabad, Iran
(*- Corresponding Author Email: nabizadeh.esmaeil@gmail.com)
2- Ph.D. Student in Horticulture, Faculty of Agriculture, Mohaghegh Ardabili University, Ardabil, Iran
3- Ph.D. Student in Crop Physiology, Faculty of Agricultural Sciences, Shahed University, Tehran, Iran
DOI: 10.22067/jhs.2022.75337.1173

data.

Results and Discussion

The results showed that the evaluated traits in the present study were affected by the main treatments of fungus and drought stress. Seedlings inoculated with *P. indica* endophytic fungi had the highest percentage of root colonization, growth parameters, photosynthetic pigment content, soluble compounds and micronutrients compared to no inoculation. Drought stress increased soluble sugars, proline content and antioxidant power of stevia leaves and decreased the other traits by increasing the stress level from 25 to 80%. The highest rate of root colonization (26.90%), stem diameter (3.21 mm) and carotenoid content (1.71 µg/ml) was observed in the treatment of plant inoculation with fungi and 25% drought stress. While the highest antioxidant power was found in the treatment of plant inoculation with fungi and 80% drought stress. According to the results of the present study, use of *P. indica* fungus had the most positive effect on the quantitative and qualitative characteristics of stevia medicinal plant compared to no fungus inoculation.

Conclusion

This study showed the positive effect of *P. indica* endophyte inoculation on quantitative and qualitative characteristics of root colonization, dry weight, number of leaves, plant height, stem diameter, chlorophyll a, b, total chlorophyll, carotenoids, proline, soluble sugars, antioxidant power and The micronutrients of calcium, iron, zinc and manganese showed stevia, and drought stress reduced the studied traits except for proline content, soluble sugars and antioxidant power. Inoculation of stevia seedlings with *P. indica* endophytic fungi at drought stress levels had the highest rate of root colonization, stem diameter, carotenoid content and antioxidant power compared to non-fungal inoculation. Therefore, due to the effect of biological compounds of natural origin and the production of plants with healthier active secondary compounds, the use of *P. indica* endophytic fungi can be recommended.

Keywords: Stevia, Pigment, Nutrients, Photosystem, Water deficit

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

مقاله پژوهشی
جلد ۳۷، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۲، ص. ۴۶۵-۴۵۳

بررسی اثر قارچ میکوریزا (*Piriformospora indica*) بر صفات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه دارویی استویا (*Stevia rebaudiana*) تحت تنش خشکی

اسمعیل نبی‌زاده[1*] - مسعود حق‌شناس[2] - خدیجه احمدی[3]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۲/۳۰
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۵/۰۸
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۶/۱۰

چکیده

گیاه دارویی استویا از خانواده Asteraceae، حاوی ترکیبات طبیعی، به ویژه استویوزید و ریبائودیوزید A است که تخمین زده می‌شود ۱۵۰ تا ۴۰۰ برابر شیرین‌تر از ساکاروز باشد. به‌منظور بررسی اثر قارچ اندوفیت *Piriformospora indica* در شرایط تنش آبی بر خصوصیات رویشی، پارامترهای فیزیولوژیکی و عناصر ریزمغذی گیاه دارویی استویا، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار در سال ۹۷-۱۳۹۶ اجرا شد. عامل اول تنش خشکی در چهار سطح (۲۵، ۴۵، ۶۰ و ۸۰ درصد ظرفیت مزرعه) و عامل دوم تلقیح نشاء با قارچ در دو سطح (عدم تلقیح و تلقیح با *P. indica*) بودند. صفات مورد مطالعه شامل کولونیزاسیون ریشه، وزن خشک، تعداد برگ، ارتفاع بوته، قطر ساقه، کلروفیل a، b، کلروفیل کل، کاروتنوئید، پرولین، قندهای محلول، قدرت آنتی‌اکسیدانی و عناصر ریزمغذی شامل مس، آهن، روی و منگنز بودند. نتایج نشان داد که صفات مورد ارزیابی در پژوهش حاضر تحت تأثیر تیمارهای اصلی قارچ و تنش خشکی قرار گرفتند. نهال‌هایی که با قارچ اندوفیت *P. indica* تلقیح شده دارای بیش‌ترین درصد کولونیزاسیون ریشه، پارامترهای رشد، محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی، ترکیبات محلول و عناصر ریزمغذی نسبت به عدم تلقیح بودند. تنش خشکی موجب افزایش قندهای محلول، میزان پرولین و قدرت آنتی‌اکسیدانی برگ گیاه دارویی استویا شد و با افزایش تنش خشکی از ۸۰ درصد ظرفیت زراعی به ۲۵ درصد باعث کاهش مابقی صفات شد. طبق نتایج مقایسه میانگین اثر برهمکنش قارچ در تنش خشکی، بیش‌ترین میزان کولونیزاسیون ریشه، قطر ساقه و محتوای کاروتنوئید در تلقیح گیاه با قارچ *P. indica* و تنش ۲۵ درصد و قدرت آنتی‌اکسیدانی در تنش ۸۰ درصد مشاهده شد. باتوجه به نتایج تحقیق حاضر استفاده از قارچ *P. indica* بیش‌ترین تأثیر مثبت بر خصوصیات کمی و کیفی گیاه دارویی استویا نسبت به عدم تلقیح قارچ برخوردار بود.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، استویا، عناصر غذایی، کم آبی، کلونیزاسیون

۱- دانشیار گروه آگروتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مهاباد، مهاباد، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: nabizadeh.esmaeil@gmail.com)
۲- دانشجوی دکتری تخصصی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
۳- دانشجوی دکتری تخصصی فیزیولوژی گیاهان زراعی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد، ایران

DOI: 10.22067/jhs.2022.75337.1173

مقدمه

گیاه دارویی استویا (*Stevia rebaudiana* Bert) از خانواده کاسنی (Asteraceae)، یک گونه علفی چند ساله و روز کوتاه است (Ucar *et al.*, 2016). به‌طور طبیعی، این گیاه بین ۲۲-۲۴ درجه جنوبی و ۵۳-۵۶ درجه غربی در آمریکای جنوبی (پاراگوئه و برزیل) رشد می‌کند، و به آن گیاه شیرین می‌گویند (Lemus Mondaca *et al.*, 2012). استویا به دلیل ترکیبات شیرین بدون کالری آن به‌طور گسترده‌ای کشت می‌شود. شیرینی گیاه استویا به وجود دی‌ترپن گلیکوزیدهای نوع انت-کورن (استویوزید و ریبائودیوزیدها) مربوط می‌شود که می‌تواند ۳۰۰ برابر شیرین‌تر از ساکاروز باشد (Hajihashemi and Ehsanpour, 2014). گیاهان در طول رشد و نمو تحت شرایط طبیعی و کشاورزی در معرض تنش‌های محیطی مختلف قرار می‌گیرند. در این میان، خشکی یکی از شدیدترین تنش‌های محیطی است که بر تولید گیاه تأثیر می‌گذارد. حدود ۸۰ تا ۹۵ درصد از زیست توده تازه اندام گیاه از آب تشکیل شده است که نقش حیاتی در فرآیندهای فیزیولوژیکی مختلف از جمله رشد، نمو و متابولیسم گیاه دارد (Brodersen *et al.*, 2019). در نتیجه، برخی خشکسالی را به عنوان تنش محیطی اصلی برای گیاهان مختلف، به ویژه در مناطق مستعد خشکسالی (Diatta *et al.*, 2020)، بحرانی ترین تهدید برای امنیت غذایی جهان در آینده و عامل قحطی‌های مهم در گذشته می‌دانند (Okorie *et al.*, 2019). اثرات خشکسالی در کشاورزی به دلیل کاهش منابع آب و افزایش تقاضای غذا برای رشد نگران کننده جمعیت جهان تشدید می‌شود (O'Connell, 2017). ماهیت غیرقابل پیش بینی خشکسالی به عوامل مختلفی مانند توزیع نامناسب و غیریکنواخت بارندگی، تبخیر و تعرق و ظرفیت نگهداری آب در اطراف ریزوسفر بستگی دارد (Devincentis, 2020).

قارچ‌های میکوریزا آربوسکولار در خاک با اکثر گیاهان خشکی‌زی همزیستی ایجاد می‌کنند (Meng *et al.*, 2020). هیف‌های بالای میکوریزاهای آربوسکولار در سطح خارجی ریشه می‌تواند به مناطق دیگر گسترش یابد، در غیر این صورت برای ریشه ها جهت جذب آب و مواد مغذی غیرقابل دسترس و تأمین آنها برای میزبان برای تسریع در دستیابی منابع غذایی مهم توسط میزبان و افزایش تحمل تنش خشکی در گیاهان می‌شوند (Cheng *et al.*, Wu *et al.*, 2020; 2021). قارچ‌های میکوریزای آربوسکولار میزان عملکرد، رشد و تجمع فعال گیاه در بیشتر گیاهان دارویی از جمله سنبل ختایی (*Angelica dahurica*)، آتراکتیلودس (*Atractylodes lancea*)، لاله باغی (*Tulipa gesneriana*)، جنسینگ (*Panax notoginseng*) و علف هفت بند (*Polygonum cuspidatum*) تحت تأثیر قرار می‌دهند (Gao *et al.*, 2007; Ma *et al.*, 2005; Tebuqin *et al.*, 2015). مطالعات نشان داد که قارچ‌های میکوریزای آربوسکولار بر فرآیندهای متابولیک ثانویه گیاهان، از جمله فلاونوئیدها و ترپنوئیدها تأثیر می‌گذارند. بیشتر ترپنوئیدها و آلکالوئیدها مواد اولیه فعال گیاهان دارویی هستند و دارای اثرات ضد التهابی، ضد باکتریایی، قلبی و ضد سرطانی هستند (Zhang *et al.*, 2015). امروزه گونه قارچی *P. indica* به عنوان کود زیستی به کار می‌رود و تولید متابولیت‌های ثانویه گیاهان با ارزش اقتصادی را افزایش داده و همچنین سبب افزایش رشد و تولید بذر بسیاری از گیاهان می‌شود (Varma *et al.*, 2012). این اندوفیت قارچی، مقدار قابل توجهی اسید فسفاتاز برای تحرک طیف گسترده‌ای از اشکال غیر قابل حل یا پیچیده فسفات تولید می‌کند و گیاه میزبان را قادر می‌سازد تا دسترسی کافی به ذخایر فسفر کم‌تحرک در خاک داشته باشد (Singh *et al.*, 2000). با این حال، گیاهان دارویی که به‌صورت همزیستی با قارچ‌های میکورزا کشت می‌شوند، اغلب گزارش شده که میزان فراوانی کمتری از قارچ‌های میکوریزای آربوسکولار در ریزوسفر دارند و که باعث کاهش قابل توجهی در بقای گیاه می‌شوند (Zhang *et al.*, 2014). کاربرد قارچ میکوریزا (*P. indica*) سبب تعدیل اثرات منفی تنش خشکی می‌شود، و کاربرد کودهای زیستی از طریق افزایش رشد و فعالیت آنتی‌اکسیدانی باعث افزایش مقاومت گیاه چای ترش به تنش خشکی گردید (Sanayei *et al.*, 2021). همزیستی گیاه دارویی ماریتیغال با قارچ‌های میکوریزا سبب افزایش در ویژگی های رشد و عملکرد شد (Hamzei and Salimi, 2015). بستر کشت ورمی کمپوست و تلقیح با قارچ میکوریزا در تیمارهایی که با محلول غذایی نوولا تغذیه شده بودند، باعث افزایش عملکرد برگ و برخی خصوصیات مربوط به ریشه گیاه دارویی استویا شد (Seyedmohammadi *et al.*, 2017). با توجه به نقش همزیستی قارچ‌های میکوریزا در تعدیل اثرات تنش خشکی، هدف از این پژوهش بررسی صفات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه دارویی استویا در پاسخ به اثرات تلقیح قارچ میکوریزا و تنش خشکی بود.

مواد و روش‌ها

مراحل آزمایش و شرایط رشد

آزمایش به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی شامل تیمار قارچ میکوریزا (بدون تلقیح قارچ و تلقیح قارچ *Piriformospora indica* با تعداد اسپورها 5×10^6 عدد در هر میلی‌لیتر مایه تلقیح) و تنش خشکی شامل چهار سطح (۲۵، ۴۵، ۶۰ و ۸۰ درصد ظرفیت مزرعه) در چهار تکرار انجام گرفت. این آزمایش در

سال ۱۳۹۶ به‌صورت گلخانه‌ای در دانشگاه آزاد اسلامی واحد مهاباد انجام شد، دمای روز و شب به ترتیب ۲۵ و ۲۲ درجه سانتی‌گراد، با دو سطح رطوبت نسبی ۶۰ (طی روز) و ۴۰ (طی شب) درصد و مقدار دی‌اکسید کربن حدود ۵۰۰–۶۰۰ میلی‌مول بر مول بود. بذور استویا از شرکت پاکان بذر اصفهان با درجه خلوص ۹۹ درصد و قوه نامیه ۸۰ درصد تهیه شدند. برای این مطالعه گیاهچه‌های یکسان برای کشت در گلدان‌های حاوی خاک مزرعه انتخاب شدند. گلدان‌هایی با ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر و قطر ۲۰ سانتی‌متر تا زیر لبه گلدان با خاک پر شدند. خاک مورد استفاده بافت رسی- لومی بود و در هر گلدان سه نهال کشت شد. در دو هفته اول کشت، تمام گلدان‌ها به‌طور یکسان آبیاری شدند. برای اندازه‌گیری درصد رطوبت خاک از دستگاه TDR (مدل TRYME، شرکت IMCO، ساخت آلمان) استفاده شد. برای کشت قارچ *P. indica* از محیط کشت پیچیده (Complex medium) حاوی عناصر میکرو، ماکرو، نمک‌ها، پیتون و عصاره مخمر استفاده شد، با تهیه تعداد کافی پتری‌دیش محتوای محیط کشت پیچیده، قارچ *P. indica* کشت و در دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد درون انکوباتور به مدت ۱۸ روز جهت تکثیر و تولید کافی اسپور نگهداری شد. پس از اتمام این مدت، اسپورهای قارچی با استفاده از محلول آب-توئین (۰/۰۲ درصد) و با کمک پاروی پلاستیکی جمع‌آوری شدند و پس از انجام مراحل سانتریفوژ و انحلال طی سه مرتبه، تعداد آن‌ها با استفاده از لام نئوبار در حدود ۵×۱۰^{۶} تنظیم شد (Hill and Käfer 2001). پس از مرحله اول کم آبی، تیمار با قارچ نیز اعمال شد و پس از دور چهارم تنش آبی، نمونه‌های گیاه استویا برداشت شد.

آماده‌سازی خاک

یک نمونه ترکیبی از خاک لومی شنی (از لایه ۰ تا ۲۵ سانتی متر) از افق سطحی مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مهاباد جمع‌آوری شد و سپس از نظر فیزیکی و شیمیایی مشخص شد که حاوی ۶۸ درصد ماسه، ۲۰ درصد سیلت، ۱۲ درصد رس، ۱/۲ درصد ماده آلی، ۰/۰۵ درصد نیتروژن کل، ۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم فسفر قابل دسترس، ۳۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم پتاسیم موجود، ۰/۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم کادمیوم کل، دارای pH= ۷/۳ و با EC= ۱/۳ دسی‌زیمنس بر متر بود. خاک در هوای آزاد خشک شد، با الک ۲ میلی‌متری الک شد و در آون با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت (۳ بار در ۳ روز متوالی) به‌منظور از بین بردن افزایش قارچ‌های بومی میکوریزا آربوسکولار و سایر میکروارگانیسم‌ها، استریل شد.

کلونیزاسیون ریشه و اندازه‌گیری قطر ساقه، ارتفاع ساقه و تعداد برگ: رنگ آمیزی ریشه برای تعیین کلونیزاسیون قارچ میکوریزا با استفاده از روش (Phillips and Hayman, 1970) انجام شد. ریشه گیاهان نمونه‌برداری شده به مدت ۵ دقیقه در محلول پتاسیم هیدروکسید (KOH) ۱۰ درصد با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد و سه بار زیر آب جاری به مدت ۱۰ دقیقه شسته شد. نمونه‌های ریشه با هیدروکلراید یک درصد به مدت یک دقیقه اسیدی شدند و سپس در محلول رنگ آمیزی تریپان بلو ۲۰ درصد غوطه‌ور شدند و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شدند. از نمونه‌های رنگ آمیزی شده، ۳۰ قطعه ریشه (طول ۱ سانتی‌متر) در هر بوته بریده شد و با میکروسکوپ نوری (Olympus BH-2 ×۲۰) مشاهده شد. کلونیزاسیون ریشه با توجه به روش تقاطع خط شبکه توصیف شده تعیین شد (Giovannetti and Mosse, 1980). در این روش، درصد کلونیزاسیون ریشه در هر گیاه با تقسیم تعداد کل قطعات ریشه کلونیزه شده (اعم از آربوسکول، وزیکول یا هیف) بر تعداد کل قطعات ریشه بررسی شده تعیین شد. پس از گذشت ۶۰ روز از کاشت، نمونه برداری از اندام‌هوایی بوته‌های استویا در سطح خاک برداشت شدند و ریشه‌ها به دقت از بستر خاک جدا شدند. اندام هوایی و ریشه‌ها با آب مقطر شسته شدند، با دستمال کاغذی پاک شدند و وزن شدند. شاخساره و ریشه جدا شدند، سپس ارتفاع بوته و تعداد برگ گیاه تعیین شد و در نهایت در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک شدند تا وزن خشک و غلظت عناصر ریزمغذی تعیین شود. برخی از قطعات ریشه در اتانول ۵۰ درصد قرار داده شد تا کلونیزاسیون ریشه مشخص شود.

اندازه‌گیری محتوای کلروفیل و کاروتنوئید: اندازه‌گیری محتوای کلروفیل و کاروتنوئید طبق رابطه‌های ۵، ۶، ۷ و ۸ انجام شد (Costache *et al.*, 2012). به این ترتیب که ۰/۲ گرم بافت تازه برگ را با ۲۰ سی‌سی از حلال متانول با غلظت خالص به‌طور کامل عصاره‌گیری نموده، پس از ۱۵ دقیقه سانترفیوژ در دور ۱۳۰۰۰ در دقیقه آن را به حجم ۲۰ میلی‌لیتر رسانده و پس از صفر کردن دستگاه اسپکتروفتومتر UV-Vis مدل Perkin Elmer ساخت شرکت Lambda25 با متانول خالص (به‌عنوان شاهد) جذب عصاره حاصل در طول‌موج‌های ۶۶۵/۲، ۶۵۲/۴ و ۴۷۰ نانومتر قرائت گردید. میزان کلروفیل a، b و کل و کارتنوئید از رابطه‌های ۵، ۶ و ۷ بدست آمدند.

$$C_a\,(\mu g/ml) = 16.72\ A_{665.2} - 9.16\ A_{652.4} \quad (۵)$$

$$C_b\,(\mu g/ml) = 34.09\ A_{652.4} - 11.21\ A_{665.2} \quad (۶)$$

$$C_{(Car)}\,(\mu g/ml) = (1000A_{470} - 1.53\ C_a - 104.96\ C_b)/221 \quad (۷)$$

پرولین و قندهای محلول: جهت اندازه‌گیری پرولین از روش بیتس و همکارانش (Bates *et al.*, 1973) استفاده شد. برای اندازه گیری پرولین، ابتدا مقدار ۰/۲ گرم از نمونه گیاهی تر بافت برگ توزین شد و در هاون چینی در ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک ۳ درصد، به خوبی ساییده شد. ماده همگن حاصل در دستگاه سانتریفیوژ با دور ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه، در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس، دو میلی‌لیتر از عصاره‌های صاف شده

را به لوله‌های دربدار منتقل نموده و به همه لوله‌ها مقدار دو میلی‌لیتر معرف نین هیدرین و دو میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال، اضافه شد. پس از بستن درب لوله‌ها، آن‌ها به مدت یک ساعت در آب ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و بعد از سرد شدن، به هر یک از لوله‌ها مقدار چهار میلی‌لیتر تولوئن اضافه شد. برای مخلوط کردن این دو محلول، به مدت ۲۰- ۱۵ ثانیه با استفاده از ورتکس لوله‌ها تکان داده شدند. سرانجام فاز رویی که به رنگ قرمز در آمده و حاوی پرولین محلول در تولوئن بود را برداشته و همزمان با نمونه‌های استاندارد، میزان جذب آن با اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت گردید و غلظت پرولین بر حسب میلی‌گرم بر گرم بافت تر برگ، با استفاده از منحنی استاندارد تعیین شد.

محتوای قند کل: محتوای قند کل با روش اسید فنل اسید سولفوریک با روش دوبویس و همکاران (DuBois *et al.*, 1956) با برخی تغییرات برآورد شد. ۰/۲ گرم از نمونه‌های منجمد در ۳ میلی‌لیتر آب مقطر ساییده شد. سپس، محلول همگن حاصل با کاغذ صافی صاف شد. برای اندازه‌گیری قند نمونه، به ۵۰ میکرولیتر از همگن صاف شده ۰/۵ میلی‌لیتر فنل ۵ درصد و ۲/۵ میلی‌لیتر سولفوریک اسید ۹۸ درصد اضافه شد. بلافاصله پس از افزودن سولفوریک اسید، واکنش گرمازا همراه با تولید رنگ نارنجی ایجاد می‌شود که تولید حرارت زیادی می‌کند. بنابراین ضروری است پس از افزودن اسید، مخلوط واکنش ۱۰ دقیقه در دمای اتاق خشک شود. جذب در طول موج ۴۹۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. محتوای قندهای محلول با کمک منحنی تهیه شده از گلوکز (صفر تا ۲۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) به-عنوان استاندارد محاسبه شد.

قدرت آنتی‌اکسیدانی و نسبت Fv/Fm: پارامتر Fv/Fm (حداکثر راندمان کوانتومی فتوشیمی PSII) با تجزیه و تحلیل اولین برگ‌های کاملاً رشد یافته استویا با استفاده از فلورومتر (Hansatech، Instruments LTD، UK) اندازه‌گیری شد. روش‌های مختلفی برای اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدان کل (یا قدرت آنتی‌اکسیدان) نمونه‌های بیولوژیکی شناخته شده است. در مطالعه حاضر، از روش FRAP برای اندازه‌گیری کاهش میزان کمپلکس ferric tripyridyltriazine (Fe (III)-TPTZ) به ferrous tripyridyltriazine (Fe (II)-TPTZ) با استفاده از یک ماده کاهش دهنده در pH پایین استفاده شد. بنابراین، ظرفیت کاهش به‌عنوان شاخص قدرت آنتی‌اکسیدانی در نظر گرفته شده است. جهت تعیین قدرت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های برگ گیاه استویا به مدت ۳۰ دقیقه برای اندازه‌گیری در تاریکی قرار داده شدند. یک گرم از بافت برگ با هاون و با استفاده از ۹ میلی‌لیتر بافر فسفات سرد ۰/۱ مولار (۷/۶ =pH)، حاوی ۰/۱ میلی‌مولار (EDTA) ساییده شد. این مخلوط بعد از عبور از کاغذ صافی و با سرعت ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. مایع رویی برای اندازه‌گیری قدرت آنتی‌اکسیدان برگ استویا توسط توانایی کاهش آهن پلاسما استفاده شد (FRAP؛ Benzie and Strain, 1996). جذب در ۵۹۳ نانومتر قرائت شد. پتانسیل آنتی‌اکسیدانی عصاره در برابر منحنی استاندارد معادل سولفات آهن محاسبه شد.

تعیین عناصر غذایی: نمونه‌های گیاه خشک شده آسیاب شده (۰/۱ گرم) و با مخلوطی HNO_3 و $HClO_4$ (با نسبت ۷:۱) هضم شدند (Zhang *et al.*, 1994). غلظت روی، آهن، مس و منگنز در محلول‌های هضم شده با استفاده از اسپکتروفتومتر جذب اتمی (Shimadzu, Japan) تعیین شد.

تجزیه آماری داده‌ها

برای تجزیه واریانس داده‌ها از نرم افزار آماری SAS 9.1 استفاده شد. مقایسه میانگین صفات با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. داده‌ها به عنوان میانگین تکرار ± خطای استاندارد (SE) بیان شدند.

نتایج و بحث

پارامترهای رشد و کلونیزاسیون ریشه

طبق نتایج تجزیه واریانس اثرات اصلی قارچ میکوریزا *P.indica* و تنش خشکی بر صفات شاخص‌های رشد شامل وزن خشک بوته، تعداد برگ، ارتفاع بوته، قطر ساقه و کولونیزاسیون ریشه گیاه استویا در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار شد. هم‌چنین اثر متقابل قارچ و تنش خشکی بر صفات کولونیزاسیون ریشه و قطر ساقه در سطح احتمال ۱٪ درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). تلقیح با قارچ *P. indica* به‌طور قابل توجهی صفات رشدی را نسبت به گیاهان عدم تلقیح شده افزایش داد و بیشترین میزان ارتفاع بوته، تعداد برگ و وزن خشک بوته در گیاهان تلقیح شده به ترتیب با میانگین‌های ۲۹/۷۹ سانتی‌متر، ۷۱ تعداد برگ در بوته و ۰/۹۶ گرم بدست آمد. هم‌چنین صفاتی مانند ارتفاع بوته، تعداد برگ و وزن خشک با افزایش سطح خشکی در خاک به‌طور معنی‌داری کاهش یافت و تنش خشکی در سطوح بالاتر کم‌ترین مقادیر این صفات را شامل شد (جدول ۳). طبق یافته‌های این آزمایش گیاهان تلقیح شده با قارچ *P. indica* قطر ساقه بیشتری نسبت به گیاهان تلقیح نشده را در عدم تنش خشکی دارا بودند. بیش‌ترین و کم‌ترین قطر ساقه به‌ترتیب مربوط به تیمارهای تلقیح با قارچ میکوریزا در شرایط تنش خشکی ۲۵٪ (L1) با میانگین ۳/۲۱ میلی‌متر و عدم تلقیح با قارچ میکوریزا در شرایط تنش خشکی ۸۰٪ (L4) با میانگین ۱/۶۵ میلی‌متر بود (جدول ۲). نتایج این آزمایش نشان داد که با افزایش سطح تنش خشکی در خاک، درصد

کلونیزاسیون ریشه به‌طور معنی‌داری کاهش یافت و کمترین میزان کلونیزاسیون تحت خشکی ۸۰٪ از ظرفیت مزرعه (L4) در خاک مشاهده شد، به‌گونه‌ای که درصد کلونیزاسیون ریشه در گیاهان تلقیح شده از ۲۶/۹۰ به درصد ۲۰/۰۱ درصد به بود (جدول ۲).

طبق داده‌های آزمایش حاضر گیاهان تلقیح شده با *P. indica* حتی در شرایط تنش خشکی هم دارای همزیستی میکوریزایی می‌باشند. این قارچ قادر به توسعه ریشه‌ها در برابر کمبود آب در خاک است و با کاهش رطوبت خاک درصد کلونیزاسیون ریشه گیاهان استویا کاهش یافت. از طرف دیگر کاهش درصد همزیستی قارچ میکوریزا می‌تواند ناشی از کاهش فتوسنتز در تنش بالا باشد و در نتیجه، کاهش عرضه کربوهیدرات توسط میزبان به قارچ، منجر به کاهش رشد قارچ و کاهش گسترش ریشه می‌شود. البته با اینکه با افزایش تنش درصد همزیستی کاهش یافت ولی با درصد پایین کلونیزاسیون اثر قابل توجهی نسبت به گیاهان عدم تلقیح دیده شد. تنش آبی تأثیر منفی بر روی برگ، ساقه و همچنین تولید مثل گیاه دارد (Eziz *et al*. 2017).

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر قارچ اندوفیت *P. indica* و تنش خشکی بر برخی صفات استویا

Table 1- ANOVA for the effect of endophytic fangi (*P. indica*) and drought stress on some characteristics of stevia

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی Df	میانگین مربعات Mean squares: کلونیزاسیون ریشه Root Colonization	وزن خشک Dry weight	تعداد برگ Leaf number	ارتفاع بوته Plant height	قطر ساقه Stem diameter
قارچ اندوفیت *P. indica* *P. indica* (P)	1	3462.72**	0.36**	4493.33**	35.86*	1.32**
تنش خشکی Drought stress (D)	3	13.51**	0.26**	1278.38**	23.12**	0.74**
P × D	3	13.51**	0.07ns	71.16ns	11.32ns	0.15**
خطا Error	16	0.55	0.04	56.86	7.20	0.02
ضریب تغییرات CV (%)	-	5.80	22.23	13.15	9.38	5.80

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

ns, ** and *: non-significant, significant at $p \leq 0.01$ and $p \leq 0.05$, respectively.

ادامه جدول ۱- تجزیه واریانس اثر قارچ اندوفیت *P. indica* و تنش خشکی بر برخی صفات استویا

Continued Table 1- ANOVA for the effect of endophytic fangi (*P. indica*) and drought stress on some characteristics of stevia

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی Df	میانگین مربعات Mean squares: کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل کل Total Chlorophyll	کارتنوئید Carotenoids	پرولین Proline	قندهای محلول Soluble Sugars
قارچ اندوفیت *P. indica* *P. indica* (P)	1	6.62**	1.31**	15.50**	0.30**	439.55*	4579.89**
تنش خشکی Drought stress (D)	3	1.79**	1.49**	6.16**	0.81**	525.48**	14824.43**
P × D	3	0.13ns	0.36ns	0.46ns	0.04*	82.18ns	640.02ns
خطا Error	16	0.56	0.25	0.90	0.04	96.19	33.83
ضریب تغییرات CV (%)	-	16.19	27.80	14.82	18.97	8.44	4.96

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

ns, ** and *: non-significant, significant at $p \leq 0.01$ and $p \leq 0.05$, respectively.

ادامه جدول ۱- تجزیه واریانس اثر قارچ اندوفیت *P. indica* و تنش خشکی بر برخی صفات استویا

Continued Table 1- ANOVA for the effect of endophytic fangi (*P. indica*) and drought stress on some characteristics of stevia

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی Df	میانگین مربعات Mean squares					
		قدرت آنتی‌اکسیدانی Antioxidant power	Fv/Fm	منگنز Mn	روی Zn	آهن Fe	مس Cu
قارچ اندوفیت *P. indica* / *P. indica* (P)	1	23747.89**	0.001**	14232.57**	374.06**	33973.11**	3.55**
تنش خشکی Drought stress (D)	3	18185.82**	0.011**	4451.47**	635.53**	14679.61**	14.21**
P × D	3	6817.45**	0.006^ns	1087.16^ns	416.35^ns	287.66^ns	0.35^ns
خطا Error	16	98.98	0.006	13.32	20.09	8.92	0.14
ضریب تغییرات CV (%)	-	8.44	10.17	3.11	7.63	1.47	12.22

ns، ** و * به‌ترتیب عدم معنی‌داری، معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.

ns, ** and *: non-significant, significant at $p \leq 0.01$ and $p \leq 0.05$, respectively

جدول ۲- اثر متقابل کاربرد قارچ اندوفیت *P. indica* × تنش آبی بر صفات مورد مطالعه گیاه دارویی استویا

Table 2- The interaction effect of endophytic fungi (*P. indica*) and water stress on the studied traits of stevia

قارچ اندوفیت Endophitic fungi	تنش آبی Water stress	کلونیزاسیون ریشه Root colonization (%)	قطر ساقه Stem diameter (mm)	کاروتنوئید Carotenoids ($\mu g.ml^{-1}$)	قدرت آنتی‌اکسیدانی Antioxidant power (μM Fe(ll).g^{-1} FW)
-P	L1	0 ± 0 ^e	2.76 ± 0.03 ^b	1.34 ± 0.05 ^bc	64.5 ± 9.1 ^c
	L2	0 ± 0 ^e	2.53 ± 0.09 ^bc	1.13 ± 0.10 ^cd	76.3 ± 10.33 ^c
	L3	0 ± 0 ^e	2.44 ± 0.02 ^c	1.06 ± 0.06 ^cd	88.2 ± 10.86 ^bc
	L4	0 ± 0 e	1.65 ± 0.18 ^d	0.44 ± 0.12 ^e	116.53 ± 2.08 ^b
+P	L1	26.90 ± 0.68 ^a	3.21 ± 0.06 ^a	1.71 ± 0.10 ^a	81.23 ± 0.16 ^c
	L2	25.6 ± 0.26 ^b	2.79 ± 0.03 ^b	1.43 ± 0.14 ^b	117.3 ± 4.77 ^b
	L3	23.58 ± 1.02 ^c	2.7 ± 0.03 ^bc	0.88 ± 0.07 ^d	119.15 ± 3.01 ^b
	L4	20.01 ± 1.12 ^d	2.6 ± 0.03 ^bc	0.88 ±0.7 ^d	279.46 ± 15.57 ^a

P-: عدم تلقیح (کنترل)، P+: قارچ اندوفیت، W: تنش آبی، L: سطوح (L1: ۸۰، L2: ۶۰، L3: ۴۵و L4: ۲۵). مقادیر میانگین ± SE. در هر ستون، میانگین‌ها دارای حروت مشترک، از نظر آماری با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

− P: non-inoculation (control), + P: *P. indica,* W: Water stress, L: levels (L1: 80, L2: 60, L3: 45 and L4: 25). Values are mean ± SE. In each column, the means with common letters are not statistically significant at 5% of probability level based on Duncan's multiple range test.

جدول ۳- اثر کاربرد قارچ اندوفیت *P. indica* و تنش آبی بر صفات مورفولوژیکی و رنگدانه‌های فتوسنتزی گیاه دارویی استویا

Table 3- The effect of endophytic fungi (*P. indica*) and water stress treatment on the morphological and photosynthetic pigments of stevia

قارچ اندوفیت Endophytic fungi	تنش آبی Water stress	ارتفاع بوته Plant Height (cm)	تعداد برگ Leaf number (No..$plant^{-1}$)	وزن خشک Dry weight (g)	کلروفیل b Chlorophyll b ($\mu g.ml^{-1}$)	کلروفیل a Chlorophyll a ($\mu g.ml^{-1}$)	کلروفیل کل Total Chlorophyll ($\mu g.ml^{-1}$)
Main effect							
-P		27.12 ± 0.32 ^b	43.66 ± 4.31 ^b	0.81 ± 0.05 ^b	4.12 ± 0.16 ^b	1.57 ± 0.22 ^ab	5.7 ± 0.36 ^b
+P		29.79 ± 0.14 ^a	71 ± 4 ^a	0.96 ± 0.08 ^a	5.18 ± 0.13 ^a	2.05 ± 0.18 ^a	7.23 ± 0.28 ^a
	Main effect						
	L1	29.91 ± 0.78 ^a	67.66 ± 5.35 ^a	1.2 ± 0.09 ^a	5.09 ± 0.21 ^a	2.13 ± 0.16^a	7.22 ± 0.30 ^a
	L2	29.5 ± 0.31 ^a	63.41 ± 4.86 ^b	0.92 ± 0.01 ^b	4.83 ± 0.18 ^b	2.08 ± 0.15^b	7 ± 0.32 ^b
	L3	27.41 ± 0.48 ^b	51.25 ± 5.48 ^c	0.73 ± 0.03 ^c	4.47 ± 0.24 ^b	1.54 ± 0.20^c	6.1 ± 0.40 ^c
	L4	26.99 ± 0.27 ^b	47 ± 4.31 ^d	0.7 ± 0.04 ^c	4.21 ± 0.17 ^b	1.5 ± 0.17 ^c	5.71 ± 0.34 ^d

P-: عدم تلقیح (کنترل)، P+: قارچ اندوفیت، W: تنش آبی، L: سطوح (L1: ۸۰، L2: ۶۰، L3: ۴۵و L4: ۲۵). مقادیر میانگین ± SE. در هر ستون، میانگین‌ها دارای حروف مشترک، از نظر آماری با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

− P: non-inoculation (control), + P: *P. indica,* W: Water stress, L: levels (L1: 80, L2: 60, L3: 45 and L4: 25). Values are mean ± SE. In each column, the means with common letters are not statistically significant at 5% of probbiltity level based on duncan's multiple range test.

طی پژوهشی استفاده از قارچهای میکوریزا و کود زیستی بیوسفر موجب افزایش در صفات ارتفاع بوته، شاخص‌های رشد و عملکرد و اجزای عملکرد گیاه دارویی زیره سبز گردید و بیان کردند که احتمالاً بخشی از ریسه‌ها وارد سیستم ریشه شده و سبب کاهش غلظت اسید آبسزیک و افزایش میزان سیتوکینین‌ها شده است که این امر موجب گسترش سیستم ریشه‌ای و افزایش جذب آب و مواد غذایی می‌شود (Haghir Ebrahimabadi *et al.*, 2018). همچنین طی یافته‌های زارع حسن‌آبادی و همکاران (Zare Hassanabadi *et al.*, 2020) دو نوع قارچ میکوریزا *Glomus mosseae* و *Glomus intraradices* باعث بهبود پارامترهای رشد و افزایش درصد کلونیزاسیون ریشه پونه آبی شد و همچنین تیمار تنش خشکی بر صفات کمی و کیفی اثر گذاشت، که طی پژوهش حاضر نیز این نتایج بدست آمدند.

محتوای کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر اصلی *P. indica* و تنش خشکی بر محتوای کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود و اثر متقابل آن‌ها بر رنگدانه‌های فتوسنتزی غیر معنی‌دار شد. اثرات قارچ *P. indica* و تنش خشکی در سطح احتمال ۱٪ و اثر متقابل قارچ *P. indica* و تنش خشکی بر محتوای کاروتنوئید در سطح ۵٪ معنی‌دار بود (جدول ۱). طبق نتایج مقایسه میانگین، تلقیح با قارچ میکوریزا *P. indica* در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده میزان کلروفیل a، b و کل بافت برگ گیاه دارویی استویا افزایش یافت. میزان کلروفیل a، b و کل به ترتیب ۲/۰۵، ۵/۱۸ و ۷/۲۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. همچنین با افزایش تنش خشکی محتوای کلروفیل a، b و کل کاهش یافت، به‌طوری که کم ترین میزان کلروفیل در تنش خشکی ۸۰٪ (L4) مشاهده شد (جدول ۳). در گیاهان تلقیح نشده و تلقیح شده با قارچ *P. indica* با افزایش سطح خشکی در خاک، میزان کاروتنوئید به طرز چشمگیری کاهش می‌یابد به طوری که بالاترین سطح خشکی دارای کم‌ترین مقدار کاروتنوئید را در برگ‌های استویا بود. بیش‌ترین و کم‌ترین میزان کاروتنوئیدها به ترتیب با میانگین‌های ۱/۷۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر تحت ۲۵٪ (L1) با تلقیح قارچ و ۰/۴۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر تحت ۸۰٪ (L4) با عدم تلقیح قارچ مشاهده شد (جدول ۲). گزارش شده است که قارچ میکوریزا *P. indica* می‌تواند با افزایش سرعت رشد از طریق مسیرهای تکامل بیوشیمیایی برای تولید هورمون‌های رشدی مانند اکسین و سیتوکینین‌ها و یا تقویت جذب عناصر غذایی توسط گیاهان میزبان، سازگاری و توانایی رقابت میزبان را افزایش دهد (Sirrenberg *et al.*, 2007). افزایش رشد ناشی از *P. indica* را می‌توان به افزایش فلورسانس و بالا بردن محتوای کلروفیل a و b در راندمان فتوسنتز میزبان نسبت داد. افزایش غلظت پرولین و قدرت آنتی‌اکسیدانی درگیر در مکانیسم‌های واسطه قارچهای میکوریزایی در تقویت و مقاومت گیاه در برابر تنش آب، منجر به تقویت رشد گیاه پونه می‌شود (Zare Hassanabadi *et al.*, 2020).

جدول ٤- اثر کاربرد قارچ اندوفیت *P. indica* و تنش آبی بر صفات مورد مطالعه گیاه دارویی استویا

Table 4- The effect of endophytic fangi (*P. indica*) and water stress treatment on the studied traits of stevia

قارچ اندوفیت Endophytic fangi	تنش آبی Water stress	فلورسانس Fv/Fm	قندهای محلول Soluble Sugars ($mg.g^{-1}$ FW)	پرولین Proline ($\mu mol.g^{-1}$ FW)
Main effect				
-P		0.76 ± 0.010 ab	86.61 ± 9.81 b	119.65 ± 6.26 b
+P		0.77 ± 0.013 a	147.5 ± 8.99 a	134.80 ± 3.41 a
	Main effect			
	L1	0.82 ± 0.007 a	80.48 ± 11.07 c	122.454 ± 10.92c
	L2	0.77 ± 0.005 b	95.43 ± 20.30 c	123.37 ± 7.50c
	L3	0.75 ± 0.010 c	125.93 ± 16.25 b	126 ± 7b
	L4	0.71 ± 0.003 d	166.38 ± 21.17 a	137.09 ± 4.61a

P-: عدم تلقیح (کنترل)، P+: قارچ اندوفیت، W: تنش آبی، L: سطوح (L1: ۸۰، L2: ۶۰، L3: ۴۵و L4: ۲۵). مقادیر میانگین ± SE. در هر ستون، میانگین‌ها دارای حروت مشترک، از نظر آماری با استفاده از آزمون چندامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

− P: non-inoculation (control), + P: *P. indica*, W: Water stress, L: levels (L1: 80, L2: 60, L3: 45 and L4: 25). Values are mean ± SE. In each column, the means with common letters are not statistically significant at 5% of brobability level based on Duncan's multiple range test.

محتوای فلورسانس، قندهای محلول و پرولین

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های این آزمایش نشان داد که اثرات اصلی تلقیح قارچ و تنش خشکی بر Fv/Fm در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۱). افزایش تنش خشکی باعث کاهش مقادیر Fv/Fm گردید به گونه‌ای که بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار فلورسانس به ترتیب مربوط به سطوح تنش خشکی ۲۵٪ (L1) با میانگین ۰/۸۲ و تنش خشکی ۸۰٪ (L4) با میانگین ۰/۷۱ بود. تلقیح با قارچ *P. indica* باعث افزایش Fv/Fm گردید، به‌طوری که

مقادیر Fv/Fm از گیاهان تلقیح شده با قارچ اندوفیت بیشتر از گیاهان در شرایط عدم تلقیح با قارچ بود (جدول ۴). طبق نتایج جدول تجزیه واریانس داده‌های آزمایش حاضر، اثرات اصلی قارچ میکوریزا و تنش خشکی بر محتوای قندهای محلول در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود، اثر متقابل فاکتورهای قارچ *P. indica* و تنش خشکی بر میزان قندهای محلول معنی‌دار نشد (جدول ۱). با افزایش رطوبت در خاک، مقدار قند محلول کل افزایش یافت و بیش‌ترین میزان قندهای محلول با میانگین ۱۶۶/۳۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر بافت برگ استویا مشاهده شد. از طرف دیگر، افزایش در میزان قندهای محلول در گیاه استویا تلقیح شده با قارچ در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده مشاهده شد (جدول ۴). اثر اصلی *P. indica* در سطح احتمال ۵٪ و تنش خشکی در سطح احتمال ۱٪ بر محتوای پرولین معنی‌دار بود. هم‌چنین اثر متقابل قارچ میکوریزا × تنش خشکی بر صفات محتوای پرولین غیر معنی‌دار شد (جدول ۱). طبق نتایج مقایسه میانگین اثرات اصلی قارچ و تنش خشکی، تلقیح گیاه استویا با قارچ *P. indica* بر میزان پرولین ۱۲/۶ درصد بیشتر از گیاهان تلقیح نشده بود. مقدار پرولین بافت برگ گیاه استویا با افزایش تنش خشکی افزایش یافت، به نحوی که بیش ترین میزان پرولین در تنش خشکی ۸۰٪ (L4) با میانگین ۱۳۷/۰۹ میکرومول بر گرم وزن تر برگ بدست آمد (جدول ۴).

پرولین در طیف گسترده‌ای از گیاهان به خصوص در شرایط تنش تولید می‌شود. در گیاهان تلقیح شده با *P. indica* در شرایط تنش مقدار پرولین بیشتری تولید می‌شود و گیاه را قادر می‌سازد که در جریان تنش، پتانسیل آب برگ بالاتر را حفظ کرده و در برابر تنش اکسیداتیو محافظت کنند (Lee *et al.*, 2001). یافته‌های مشابه نیز در گیاه آربیدوبسیس گزارش شده است (Sherameti *et al.*, 2008). طی پژوهشی در گیاه کلم چینی (*Chinese cabbage*) مشاهده شد که مقدار Fv/Fm در گیاهان تلقیح شده با قارچ *P. indica* تحت تنش خشکی به‌طور معنی‌داری کاهش نیافت (Sun *et al.*, 2010). احتمالاً قارچ با افزایش توانایی سیستم فتوسنتزی گیاه، تسهیل انتقال الکترونی و افزایش تراکم واحدهای فتوسنتزی، سیستم فتوسنتز را تحریک کند. بنابراین اثر مثبت و متقابل گیاه با قارچ میکوریزا ریشه بر عملکرد فتوسنتزی گیاهان منجر می‌شود. افزایش قند محلول در گیاهان تحت تیمار با قارچ میکوریزا توسط بهویان و همکاران (Bhuyan *et al.*, 2015) گزارش شده است. آن‌ها گزارش دادند که همزمان تلقیح *P. indica* و *Azotobacter chroococcum* باعث افزایش جذب کربن و نیتروژن توسط قارچ‌ها می‌شود. می‌توان پیش بینی کرد که تلقیح گیاهان با *P. indica* و *A. chroococcum* مواد مغذی مهمی را برای گیاهان فراهم می‌کند که سنتز فتوسنتز را افزایش می‌دهد و در نتیجه باعث افزایش کلروفیل، کاروتنوئیدها، کل قند و پروتئین می‌شود که باعث رشد بیشتر گیاه می‌گردد. علاوه بر این، افزایش غلظت قندهای محلول مانند گلوکز، ساکارز و فروکتوز تحمل گیاه را در برابر چندین تنش غیر طبیعی مانند خشکی، شوری و سرما تقویت می کند (Rathinasabapathi, 2000).

گلوکز باعث بسته شدن روزنه و تقویت سازگاری گیاه در شرایط تنش خشکی می‌شود. تجمع شکر از اکسیداسیون غشای سلولی در معرض تنش خشکی جلوگیری می‌کند (Arabzadeh, 2012). قند محلول همچنین باعث حفظ محتوای آب برگ و تنظیم اسمزی گیاهان تحت شرایط تنش خشکی می‌شود (Xu *et al.*, 2010). آزمایش ما به وضوح نشان می‌دهد که تنش خشکی از نظر غلظت قند محلول در برگ، تحت تنش خشکی (خصوصاً در بالاترین سطح) از نظر گیاهان سودمند است. دلیل تأثیر قارچ در افزایش محتوای قندهای محلول افزایش سطوح هورمون‌های گیاهی مانند سایتوکنین و جیبرلین در گیاهان میکوریزایی می‌باشد. افزایش در میزان این هورمون‌های به‌ویژه سایتوکنین می‌تواند با انتقال یون‌های مؤثر در باز شدن روزنه‌ها و تنظیم سطح کلروفیل، موجب افزایش و بالا رفتن سرعت فتوسنتز و در نهایت افزایش محتوای کربوهیدرات‌ها در گیاهان شود (Zare Hassanabadi *et al.*, 2020). کاربرد کودهای زیستی با منشأ قارچ‌های میکوریزایی باعث افزایش در قندهای محلول و محتوای آنتوسیانین گیاه استویا شد (Valinezhad *et al.*, 2019). در پژوهشی قارچ *P. indica* توانست در شرایط رطوبتی یکسان، شاخص و فلورسانس کلروفیل را در گیاه آنیسون تلقیح شده نسبت به شاهد بدون قارچ افزایش دهد. هم‌چنین افزایش ۱۲/۸۲ درصدی نسبت Fv/Fm در گیاهان تلقیح شده با قارچ *P. indica*، می‌تواند نشانه افزایش میزان حفاظت نوری باشد و هم‌چنین دلیلی است بر اینکه قارچ بر کارایی فتوسنتز اثر معنی‌داری گذاشته است (Abdollahi *et al.*, 2019).

محتوای قدرت آنتی‌اکسیدانی

بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس اثرات اصلی قارچ *P. indica*، تنش خشکی و اثر متقابل آن‌ها بر محتوای قدرت آنتی اکسیدانی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). در گیاهان تلقیح نشده و تلقیح شده با *P. indica*، با افزایش سطح خشکی در خاک، میزان قدرت آنتی‌اکسیدانی به‌طرز چشم‌گیری افزایش یافت، به‌طوری که بالاترین سطح تنش خشکی در خاک بیش‌ترین مقدار قدرت آنتی‌اکسیدان را در برگ‌های استویا تولید کرد. افزایش برای محتویات قدرت آنتی‌اکسیدانی به ترتیب ۷۳/۵۳ درصد و ۱۳/۸۱ درصد در ۶۰ و ۸۰ درصد ظرفیت مزرعه بدست آمد (جدول ۲). طبق مطالعه حاضر ظرفیت بالای آنتی‌اکسیدان کل برگ گیاه استویا تحت تیمار با *P. indica* در اتلاف الکترون‌های تولید شده فتوسنتزی و در کاهش آسیب اکسیداتیو تنش آبی کمک می‌کند (Valinezhad *et al.*, 2019).

ریزمغذی‌ها

طبق نتایج جدول تجزیه واریانس داده‌های تحقیق حاضر، اثر اصلی قارچ میکوریزا (*P. indica*) و تنش خشکی بر مقدار مس، آهن، روی و منگنز در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود. همچنین اثر متقابل قارچ میکوریزا (*P. indica*) در تنش خشکی بر صفات عناصر ریزمغذی غیر معنی‌دار شد (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین اثر قارچ میکوریزا (*P. indica*) بر عناصر ریزمغذی‌ها نشان داد که افزایش در میزان غلظت عناصر مس (۳/۵۴ میکروگرم بر گرم وزن خشک)، آهن (۲۴۰/۳۷ میکروگرم بر گرم وزن خشک)، روی (۶۱/۸۰ میکروگرم بر گرم وزن خشک) و منگنز (۱۴۱/۴۸ میکروگرم بر گرم وزن خشک) مشاهده شد. با افزایش سطح تنش خشکی در خاک، غلظت مس و آهن به‌طور معنی‌داری در برگ‌های استویا کاهش یافت و بیش‌ترین میزان عناصر مس، آهن، روی و منگنز به ترتیب با میانگین‌های ۴/۴۳، ۲۵۲/۸۴، ۶۵ و ۱۳۴/۱۲ میکروگرم بر گرم وزن خشک برگ در تنش ۲۵٪ (L1) بدست آمد (جدول ۵).

با توجه به تحرک کم روی، آهن، مس و منگنز در خاک، جذب این مواد مغذی فلزی از طریق ریشه از طریق انتشار محدود است. هرچه تجمع هیف‌های قارچی در ریشه بیشتر باشد، سطح جذب آن نیز بیشتر است، گیاهان تلقیح شده با قارچ میکوریزا به‌طور مؤثرتر باعث جذب این مواد مغذی فلزی با تحرک کم می‌شوند. نقش مثبت تلقیح قارچ میکوریزا بر جذب ریز مغذی‌ها برای چند گونه گیاه توسط محققان متعددی مورد توجه قرار گرفته است (Ortas *et al.*, 2011). تلقیح میکوریزایی باعث افزایش محتوای منگنز در مقایسه با گیاهان غیر تلقیح در گیاه کاهو گردید (Sanmartín *et al.*, 2014). گوسال و همکاران (Gosal *et al.*, 2010) گزارش دادند که استفاده از تلقیح *P. indica* در *Chlorophytum SP*، جذب ریز مغذی (مس و منگنز) بسیار بهبود یافته است. با افزایش تنش خشکی در خاک، جذب عناصر ریز مغذی (مس، آهن، منگنز و روی) توسط گیاه کاهش یافت. انتقال مواد مغذی از خاک به ریشه هنگام در دسترس نبودن آب باعث کاهش جذب مواد مغذی از خاک می‌شود که از مکانیسم های تخلیه و کاهش جریان تعرق ناشی می‌شود (Baligar *et al.*, 2001).

جدول ۵- اثر کاربرد قارچ اندوفیت *P. indica* و تنش خشکی بر محتوای عناصر غذایی در برگ گیاه استویا

Table 5- The effect of endophytic fangi (*P. indica*) and drought stress on nutrient contents of the Stevia leaf

قارچ اندوفیت Endophytic fangi	تنش آبی Water stress	مس Cu (µg/g DW)	آهن Fe (µg/g DW)	روی Zn (µg/g DW)	منگنز Mn (µg/g DW)
Main effect					
-P		2.77 ± 0.36 b	165.11 ± 15.26 b	47.57 ± 3.08 b	92.68 ± 0.55 b
+P		3.54 ± 0.31 a	240.37 ± 30.46 a	61.80 ± 2.93 a	141.48 ± 0.24 a
	Main effect				
	L1	4.43 ± 0.32 a	252.84 ± 28.55 a	65.00 ± 4.32 a	134.12 ± 0.81 a
	L2	3.52 ± 0.42 b	234.31 ± 37.77 b	59.82 ± 4.40 a	147.45 ± 0.39 a
	L3	2.80 ± 0.41 c	177.66 ± 50.95 c	50.50 ± 3.07 b	106.45 ± 0.86 ab
	L4	1.87 ± 0.14 d	146.14 ± 47.94 d	43.43 ± 4.13 b	80.3 ± 0.41 b

-P: عدم تلقیح (کنترل)، +P: قارچ اندوفیت، W: تنش آبی، L: سطوح (L1: ۸۰، L2: ۶۰، L3: ۴۵و L4: ۲۵). مقادیر میانگین ± SE. در هر ستون، میانگین‌ها دارای حروف مشترک، از نظر آماری با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

− P: non-inoculation (control), + P: *P. indica*, W: Water stress, L: levels (L1: 80, L2: 60, L3: 45 and L4: 25). Values are mean ± SE. In each column, the means with common letters are not statistically significant at 5% of probability level based on Duncan’s multiple range test.

نتیجه‌گیری

این مطالعه تأثیر مثبت تلقیح قارچ اندوفیت *P. indica* بر ویژگی‌های کمی و کیفی مانند کولونیزاسیون ریشه، وزن خشک، تعداد برگ، ارتفاع بوته، قطر ساقه، کلروفیل a، b، کلروفیل کل، کاروتنوئید، پرولین، قندهای محلول، قدرت آنتی‌اکسیدانت و عناصر ریزمغذی مس، آهن، روی و منگنز گیاه دارویی استویا را نشان داد، و تنش خشکی موجب کاهش صفات مورد بررسی بجز محتوای پرولین، قندهای محلول و قدرت آنتی‌اکسیدان شد. تلقیح نشاهای استویا با قارچ اندوفیت *P. indica* در سطوح تنش خشکی نسبت به عدم تلقیح قارچ دارای بیش‌ترین میزان کولونیزاسیون ریشه، قطر ساقه، محتوای کاروتنوئیدی و قدرت آنتی‌اکسیدانی بودند. بنابراین با توجه به اثر ترکیبات زیستی با منشأ طبیعی و تولید گیاهان با ترکیبات ثانویه فعال سالم‌تر، کاربرد قارچ اندوفیت *P. indica* توصیه می‌شود.

منابع

1. Abdollahi, S., Ali Asgharzad, N., Zahtab Selmasi, S., & Khoshru, B. (2019). Effects of endophytic fungus piriformospora indica on growth indices and nutrient uptake by anise plant (*Pimpinella anisum*) under water deficit

stress conditions. *Journal of Agricultural Science and Sustainable Production*, *29*(4), 51-64.

2. Arabzadeh, N. (2012). The effect of drought stress on soluble carbohydrates (sugars) in two species of *Haloxylon persicum* and *Haloxylon aphyllum*. *Asian Journal of Plant Sciences*, *11*, 44-51. https://doi.org/10.3923/ajps.2012.44.51
3. Baligar, V.C., Fageria, N.K., & He, Z.L. (2001). Nutrient use efficiency in plants. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, *32*, 921-950.
4. Bates, L.S., Waldern, R.P., & Teave, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*, *39*, 205-207. https://doi.org/10.1007/BF00018060
5. Benzie, I.F.F., & Strain, J.J. (1996). The Ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of 'antioxidant power: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, *239*, 70–76. https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292
6. Bhuyan, S.K., Bandyopadhyay, P., Kumar, P., Mishra, D.K., Prasad, R., Kumari, A., & Yadava, P.K. (2015). Interaction of *Piriformospora indica* with Azotobacter chroococcum. *Scientific Reports*, *5*, 13911. https://doi.org/10.1038/srep13911
7. Brodersen, C.R., Roddy, A.B., Wason, J.W., & McElrone, A.J. (2019). Functional status of xylem through time. *Annual Review Plant Biology*, *70*, 407–433. https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050718-100455
8. Cheng, H.Q., Zou, Y.N., Wu, Q.S., & Kuča, K. (2021). Arbuscular mycorrhizal fungi alleviate drought stress in trifoliate orange by regulating H+-ATPase activity and gene expression. *Frontiers in Plant Science*, *12*, 659-694. https://doi.org/10.1016/10.3389/fpls.2021.659694
9. Costache, M.A., Campeanu, G., & Neata, G. (2012). Studies concerning the extraction of chlorophyll and total carotenoids from vegetables. *Romanian Biotechnological Letters*, *17*(5), 7702-7708.
10. Devincentis, A.J. (2020). *Scales of sustainable agricultural water management*. Ph.D. Thesis, University of California, Davis, CA, USA.
11. Diatta, A.A., Fike, J.H., Battaglia, M.L., Galbraith, J., & Baig, M.B. (2020). Effects of biochar on soil fertility and crop productivity in arid regions: A review. *Arabian Journal of Geosciences*, *13*, 595. https://doi.org/10.1007/s12517-020-05586-2
12. DuBois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *American Chemical Society*, *28*(3), 350–356
13. Eziz, A, Yan, Z, Tian, D, Han, W, Tang, Z., & Fang, J. (2017). Drought effect on plant biomass allocation: A meta-analysis. *Ecology and Evolution*, *7*, 11002–11010. https://doi.org/10.1002/ece3.3630
14. Gao, A.X., & He, X.L. (2007). Ecological study on am fungi around roots of medicinal plants in the middle area of Hebei province. *Agricultural Research in the Arid Areas*, *25*(3), 196-202. https://doi.org/10.1016/S1872-2040(07)60079-6
15. Giovannetti, M., & Mosse, B. (1980). An evaluation of techniques for measuring vesicular *Arbuscular Mycorrhizal* infection in roots. *New Philologists*, *84*, 489-500. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1980.tb04556.x
16. Gosal, S.S., Wani, S.H., & Kang, M.S. (2010). Biotechnology and crop improvement. *Journal of Crop Improvement*, *24*(2), 153-217. https://doi.org/10.1080/15427520903584555
17. Haghir Ebrahimabadi, A., Hatami, M., Karimzadeh Asl, K., & Ghorbanpour, M. (2018). Effect of mycorrhizal fungi and biophosphor fertilizer on growth features, yield and yield components, and essntial oil constituents in *Cuminum cyminum* L. *Journal of Medicinal Plants*, *17*(66), 74-90. (In Persian with English abstract). https://doi.org/20.1001.1.2717204.2018.17.66.3.1
18. Hajihashemi, S., & Ehsanpour, A.A. (2014). Antioxidant response of *Stevia rebaudiana* B. to polyethylene glycol and paclobutrazol treatments under in vitro culture. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, *172*(8), 4038-4052. (In Persian with English abstract)
19. Hamzei, J., & Salimi, F. (2015). Root colonization, yield and yield components of milk thistle (*Silybum marianum*) affected by mycorhizal fungi and phosphorus fertilizer. *Journal of Agricultural Science and Sustainable Production*, *24*(4), 85-96.
20. Hill, T.W., & Kafer, E. (2001). Improved protocols for Aspergillus minimal medium: trace element and minimal medium salt stock solutions. *Fungal Genetics Reports*, *48*, 8. https://doi.org/10.4148/1941-4765.1173
21. Lee, D.H., Kim, Y.S., & Lee, C.B. (2001). The inductive responses of the antioxidant enzymes by salt stress in rice (*Oryza sativa* L.). *Jurnal Plant Physioloy*, *158*, 737–745. https://doi.org/10.1078/0176-1617-00174
22. Lemus-Mondaca, R., Vega-Gálvez, A., Zura-Bravo, L., & Ah-Hen, K. (2012). *Stevia rebaudiana* Bertoni, source of a high-potency natural sweetener: A comprehensive review on the biochemical, Nutritional and Functional Aspects. *Food Chemistry*, *132*(3), 1121-1132. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.11.140
23. Ma, Y.F., Yang, X.H., Li, P.M., & Tong, R.J. (2005). Investigation of the diversity of arbuscular mycorrhizal structure of medicinal plants in Chongqing. *Journal of Southwest Agricultural University*, *27*(3), 406-409.
24. Meng, L.L., He, J.D., Zou, Y.N., Wu, Q.S., & Kuča, K. (2020). Mycorrhiza-released glomalin-related soil protein fractions contribute to soil total nitrogen in trifoliate orange. *Plant, Soil and Environment*, *66*, 183-189. https://doi.org/10.17221/100/2020-PSE
25. OConnell, E. (2017). Towards adaptation of water resource systems to climatic and socio-economic Chang. *Water*

Resources Management, 31, 2965–2984. https://doi.org/10.1007/s11269-017-1734-2
26. Okorie, V.O., Mphambukeli, T.N., & Amusan, S.O. (2019). Exploring the political economy of water and food security nexus in BRICS. *Africa Insight, 48*, 21–38. https://hdl.handle.net/10520/EJC-15b208a68b
27. Ortas, I., Sari, N., Akpinar, C., & Yetisir, H. (2011). Screening mycorrhiza species for plant growth, P and Zn uptake in pepper seedling grown under greenhouse conditions. *Scientia Horticulturae, 128*, 92–98. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2010.12.014
28. Phillips, J.M., & Hayman, D.S. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society, 55*(1), 158-161. https://doi.org/10.1016/S0007-1536(70)80110-3
29. Rathinasabapathi, B. (2000). Metabolic engineering for stress tolerance: Installing osmoprotectant synthesis pathways. *Annals of Botany, 86*, 709-716. https://doi.org/10.1006/anbo.2000.1254
30. Sanayei, S., Barmaki, M., Ebadi khazine Gadim, A., & Torabi Giglou, M. (2021). Effect of drought stress and inoculation of mycorrihizal fungi and *Pseudomonas* spp. on some morpho-physiological characteristics of roselle (*Hibiscus sabdaeiffa* L.). *Journal of Agricultural Science and Sustainable Production, 30*(2), 71-89.
31. Sanmartín, C., Garmendia, I., Romano, B., Díaz, M., Palop, J.A., & Goicoechea, N. (2014). Mycorrhizal inoculation affected growth, mineral composition, proteins and sugars in lettuces biofortified with organic or inorganic selenocompounds. *Scientia Horticulturae, 180*, 40–51. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2014.09.049
32. Seyedmohammadi, N., Barmaki, M., & Davari, M. (2019). Effect of mycorrhizal fungi on leaf yield, root colonization percentage and some features of *Stevia rebaudiana* root in a soilless culture system. *Journal of Agricultural Science and Sustainable Production, 29*(2), 189-204.
33. Sherameti, I., Tripathi, S., Varma, A., & Oelmüller, R. (2008). The root-colonizing endophyte *Pirifomospora indica* confers drought tolerance in Arabidopsis by stimulating the expression of drought stress–related genes in leaves. *Molecular Plant-Microbe Interactions, 21*(6), 799-807. https://doi.org/10.1094/MPMI-21-6-0799
34. Singh, A., Sharma, J., Rexer, K.H., & Varma, A. (2000). Plant productivity determinants beyond minerals, water and light: *Piriformospora indica* – A revolutionary plant growth promoting fungus. *Current Science, 79*(11), 1548-1554.
35. Sirrenberg, A., Göbel, C., Grond, S., Czempinski, N., Ratzinger, A., Petr Karlovsky, P., Patricia Santos, P., Feussner, L., & Pawlowski, K. (2007). Piriformospora indica affects plant growth by auxin production. *Physiology Plantarum, 131*, 581-589. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2007.00983.x
36. Sun, C., Johnson, J.M., Cai, D., Sherameti, I., Oelmüller, R., & Lou, B. (2010). *Piriformospora indica* confers drought tolerance in Chinese cabbage leaves by stimulating antioxidant enzymes, the expression of drought-related genes and the plastid-localized CAS protein. *Journal of Plant Physiology, 167*(12), 1009-1017. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2010.02.013
37. Tebuqin Bao, Y.Y. (2015). Colonization characteristics of AMF in common mongolian medicinal plants of horqin sandy land. *Inner Mongolia Agricultural Science and Technology, 43*(6), 25-28. https://doi.org/10.3969/j.issn.1007-0907.2015.06.008
38. Ucar, E., Ozyigit, Y., & Turgut, K. (2016). The effects of light and temperature on germination of stevia (*Stevia rebaudiana* BERT.) seeds. *Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi, 3*(1), 37-40.
39. Valinezhad, Z., Gholizadeh, A., Naeemi, M., Gholamalalipour Alamdari, E., & Zarei, M. (2019). Effects of vermicompost and mycorrhizal fungus on quantitative and qualitative traits of medicinal plant *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 35*(3), 484-500. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22092/ijmapr.2019.123788.2417
40. Varma, A., Sheramati, I., & Tripathi, S. (2012). *The symbiotic fungus Piriformospora indica*. Review. In Hock B (eds). Fungal Associations. 2nd Ed. Berlin: Springer; pp. 231-154.
41. Wu, Q.S., Gao, W.Q., Srivastava, A.K., Zhang, F., & Zou, Y.N. (2020). Nutrient acquisition and fruit quality of Ponkan mandarin in response to AMF inoculation. *Indian Journal of Agricultural Sciences, 90*, 1563-1567.
42. Xu, F., Tan, X., & Wang, Z. (2010). Effects of sucrose on germination and seedling development of *Brassica Napus*. *International Journal of Biology, 2*, 150-154.
43. Zare Hassanabadi, M Z., Dashti, M., & Akhondi, M. (2020). The effect of two species of *Arbuscular mycorrhiza* fungi on the activity of antioxidant enzymes and morphophysiological characteristics of *Mentha pulegium* L. in drought stress. *Technology of Medicinal and Aromatic Plants of Iran, 2*(2), 83-99. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22092/MPT.2020.127803.1049
44. Zhang, H., Sun, J.Q., & Bao, Y.Y. (2015). Advances in studies on plant secondary metabolites influenced by *Arbuscular mycorrhizal* fungi. *Journal of Agricultural Biotechnology, 23*(8), 1093-1103. https://doi.org/10.3969/j.issn.1674-7968.2015.08.013
45. Zhang, Y., Proenca, R., & Maffei, M. (1994). Positional cloning of the mouse *obese* gene and its human homologue. *Nature, 372*, 425–432.
46. Zhang, Z., Zhang, J., & Huang, Y. (2014). Effects of *Arbuscular mycorrhizal* fungi on the drought tolerance of *Cyclobalanopsis glauca* seedlings under greenhouse conditions. *New For, 45*, 545–556.

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

Research Article
Vol. 37, No. 2, Summer 2023, p. 467-479

Effect of Winter Foliar Application of Urea on Changes in Leaf and Node Polyamines, Yield and Some Characteristics of Reproductive of Kinnow Mandarin Trees

F. Karamnezhad[1], N. Moallemi[2*], E. Khaleghi[3]

Received: 06-06-2022 Revised: 06-08-2022 Accepted: 13-09-2022 Available Online: 13-09-2022	**How to cite this article:** Karamnezhad, F., Moallemi, N., & Khaleghi, E. (2023). Effect of winter foliar application of urea on changes in leaf and node polyamines, yield and some characteristics of reproductive of Kinnow mandarin trees. *Journal of Horticultural Science*, *37*(2), 467-479. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jhs.2022.77067.1176

Introduction

Nitrogen plays an important role in the uniformity and quality of citrus trees. Several studies previously reported that a low level of nitrogen in citrus trees is generally caused a reduction in yield and fruit quality (Aziz, 1997; Khan *et al*., 2009). In this regard, applying urea is recommended as the most suitable form of nitrogen for foliar application. The polyamines are included; putrescine, spermidine, and spermine which have been considered as plant growth regulators (Alcazar *et al*., 2010; Khezri *et al*., 2010). The role of nitrogen in vegetative and reproductive growth and yield, as well as the correlation between polyamines, flower induction and fruit set in other plants, were proved in previous studies. In this regard, the results of the current study will increase our understanding about the role of polyamines in the morphology of the tree and also the mechanism of regulating the alternate bearing of Kinnow mandarin leading to an approach method to address this problem.

Materials and Methods

To conduct this study a 17-year-old uniform of Kinnow Mandarin (*Citrus reticulate* Blanco) grafted onto Bitter orange (*Citrus aurantium*) rootstock, which grown in a commercial orchard, located in Dezful (Khuzestan Province in Iran). For sampling, the branches which possess leaves and nodes were selected from four sides of each tree, then leaves and nodes were collected at three different time points (one, three, and five weeks post-treatment). Samples were immediately frozen in liquid nitrogen after excision and transported to the Physiology Laboratory of fruit trees within 2h for determining the N fractions and polyamines. The concentration of N in dried leaves and nodes was determined using the colorimetry technique as described by Walling *et al.* (1989). The experiment was set up as a factorial treatment based on a randomized complete block design with three replications to investigate the effect of different concentrations of urea foliar application (0, 0.75%, 1.5%) on nitrogen and polyamines contents at different time points (Dec 22, Jan 5, Jan 20) followed by evaluating flower characteristics and yield in Kinnow mandarin plant. Data analysis including variance was carried out using MSTATC and SAS software. To compare the mean of polyamines and nitrogen in leaves and nodes, the cut-out method was used, and also for comparison of pistil dimensions, number of flowers, and yields, *Duncan's multiple range test* (*DMRT*) was performed.

Results and Discussion

Results indicated that polyamines concentration and nitrogen decreased during the period of time and also, in most cases, polyamines concentration was lower in the nodes than the leaves. High levels of polyamines and nitrogen were obtained in leaves and nodes which were treated with the foliar application of 1.5 % urea

1, 2 and 3- Ph.D. Graduate of Physiology and Fruit Tree Breeding, Professor and Associate Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: n.moallemi@scu.ac.ir)
DOI: 10.22067/jhs.2022.77067.1176

concentration after Jan 20. The polyamines content in leaves and nodes was greatly dependent on the spraying time and urea concentration used. Spermine (Spm) was the dominant polyamines in leaves and nodes with the highest values of 44.01 nmol/gF.W, 34.41 nmol/gF.W, respectively. Regarding the fact that flower density was higher in trees that treated with urea concentration of 1.5 % after Jan 5 y than other treatments, however, their yield was lower than the trees that treated on Dec 22 with the same urea concentration. This was probably due to the flower abscission as well as the fruit abscission in June. The results of this study showed that the highest yield was obtained with 1.5 % urea concentration after foliar application on Dec 22 compared with other treatments. Regarding the fact that flower differentiation in mandarin occurs during the late January until late February (in Dezful conditions), it can be explained that the foliar application on Dec 22 was performed before differentiation and consequently, the trees have received their required nitrogen. Also, the low-temperature is considered as natural inducer of citrus flowering in the Dezful, likewise, foliar fertilizer application in winter along with the natural factor (low temperature) stimulates flowering in a larger number of buds resulting in increasing the flowering. As nitrogen promotes vegetative and reproductive growth, it can be said that increasing the nitrogen content of leaves followed by transfering to the nodes, increases the number of buds, especially reproductive buds, which leads to an increase in flowering and yield. According to this study, the foliar application of urea in winter with 1.5% concentration can increase yield in Kinnow mandarin trees. Therefore, polyamines can play an important physiological role in flower development of Kinnow mandarin.

Conclusion

In this study, we focused on the effect of the foliar application urea during winter on leaves and nodes of Kinnow mandarin trees and investigated the polyamines, Put, Spm, and Spd contents upon treatments. In conclusion, the application of foliar urea in winter resulted in the significant endogenous increase of polyamines and N in the leaves and nodes of Kinnow mandarin trees. Also, yield, flower density, and pistil diameter were increased by spraying urea. There is a possibility that free polyamines affect on physiological processes.

Keyword: Nitrogen, Putrescine, Spermidine, Spermine

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

مقاله پژوهشی
جلد ۳۷، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۲، ص. ۴۷۹-۴۶۷

تأثیر محلول‌پاشی زمستانه اوره بر تغییرات پلی‌آمین‌های برگ، گره، عملکرد و خصوصیات زایشی درختان نارنگی 'کینو'

فاطمه کرم نژاد[1]- نوراله معلمی[2*]- اسماعیل خالقی[3]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۳/۱۶
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۵/۱۵
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۶/۲۲

چکیده

با توجه به نقش پلی‌آمین‌ها در تشکیل گل و تولید میوه، این تحقیق در سال ۹۵-۱۳۹۴ به منظور بررسی تاثیر اوره بر میزان پلی‌آمین‌های آزاد و تولید گل و میزان محصول در درختان ۱۷ ساله نارنگی رقم 'کینو' انجام شد. تیمارها شامل سه غلظت اوره (صفر، ۰/۷۵ و ۱/۵ درصد) و سه زمان محلول‌پاشی (۱ دی ماه، ۱۵ دی ماه و ۳۰ دی ماه) با سه تکرار قبل از گل‌انگیزی بر روی درختان اعمال شد. پلی‌آمین‌ها در دو اندام برگ و گره مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. در این آزمایش از برگ و گره در، ۱، ۳ و ۵ هفته بعد از محلول‌پاشی، نمونه‌برداری و مقدار پلی‌آمین‌های پوتریسین، اسپرمیدین، اسپرمین و نیتروژن اندازه گیری شد. بیشترین مقدار پلی‌آمین‌ها و نیتروژن در برگ‌ها و گره‌ها بعد از محلول‌پاشی ۳۰ دی ماه با غلظت اوره ۱/۵ درصد به دست آمد. ولی بتدریج با گذشت زمان بعد از محلول‌پاشی مقدار پلی‌آمین‌ها و نیتروژن در برگ و گره کاهش یافت. غلظت پلی‌آمین‌ها در برگ و گره بسته به غلظت اوره و زمان محلول‌پاشی، متفاوت بود. نتایج این تحقیق نشان داد که اسپرمین پلی‌آمین غالب در برگ‌ها و گره‌ها (به‌ترتیب ۴۴/۰۱ و ۳۴/۴۱ نانو مول بر گرم بافت تر) بود. همچنین نتایج نشان داد که محلول‌پاشی اوره در زمستان باعث افزایش تعداد گل و عملکرد محصول نارنگی کینو گردید. با توجه به نتایج این پژوهش می‌توان محلول‌پاشی اوره در دی‌ماه، با غلظت ۱/۵ درصد را به منظور افزایش عملکرد نارنگی رقم 'کینو' توصیه کرد.

واژه‌های کلیدی: اسپرمیدین، اسپرمین، پوتریسین، نیتروژن

مقدمه

برای کنترل سال‌آوری و تولید محصول با کیفیت، نیتروژن نقش مهمی در مدیریت تغذیه درختان مرکبات ایفا می‌کند. کاهش میزان نیتروژن در درختان مرکبات یک عامل محدودکننده و موثر بر عملکرد میوه و کیفیت میوه است (Khan *et al.*, 2009). اوره به عنوان مناسب‌ترین کاربرد برگی نیتروژن توصیه شده است. اوره به دلیل خواص فیزیکی از قبیل غیر قطبی بودن، جذب سریع، سمیت کم، حلالیت بالا و همچنین تسریع در جذب سایر مواد محلول‌پاشی شده قابل اهمیت است. بررسی‌ها نشان داده است که حدود ۴۸ تا ۶۵ درصد انتقال موثر اوره به تمام اندام‌های درخت با کاربرد برگی تامین می‌شود (Khan *et al.*, 2009). محلول‌پاشی برگی اوره قبل از شروع رشد جوانه، در درختان مرکبات ، گلدهی را تا حدودی بهبود بخشید (Akbari Chermahini *et al.*, El-Otmani *et al.*, 2004 ; 2010). به طوری‌که محلول‌پاشی برگی اوره در سال کم محصول (off) در درختان نارنگی در طی مرحله القاء/تمایز گلدهی سبب کاهش تناوب باردهی شده است (Benhamou *et al.*, 2004 ; Karamnezhad *et al.*, 2018). در تحقیقی به منظور بررسی تاثیر

۱، ۲ و ۳- به‌ترتیب دانش آموخته دکتری فیزیولوژی و اصلاح درختان میوه، استاد و دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: n.moallemi@scu.ac.ir)
DOI: 10.22067/jhs.2022.77067.1176

محلول‌پاشی زمستانه اوره بر میزان گلدهی و میوه‌بندی درختان پرتقال والنسیا، دریافتند که، محلول‌پاشی زمستانه اوره به مدت ۲ هفته، به طور موقت، موجب افزایش سطح نیتروژن برگ‌ها شد. همچنین غلظت‌های مختلف اوره (۰، ۰/۵ و ۱ درصد) موجب افزایش تعداد گل، تحریک رشد تخمدان و افزایش سطح میوه‌بندی گردید و بیشترین تاثیر مربوط به بالاترین غلظت اوره بود (Akbari Chermahini *et al.*, 2010). رشد و نمو مرکبات به طور پیچیده، در تعامل بین مواد مغذی و هورمون‌ها، در پاسخ به سیگنال‌های محیطی تنظیم شده است. مطالعات انجام شده نشان داد که میزان محصول درختان مرکبات، القای گل و تمایز جوانه گل را تحت تاثیر قرار می دهد (Valiente and Albrigo, 2004). گزارش شده است که در مرکبات القا گل در اواخر پاییز، و در حالی که تمایز پس از آن رخ می‌دهد (Iglesias *et al.*, 2007)، تلاش‌هایی به منظور مطالعه نقش ترکیبات تنظیم کننده رشد گیاهی در فرآیندهای زایشی صورت گرفته است. در میان آنها پلی‌آمین‌ها نقش مهمی درکنترل تشکیل میوه دارند (Pritsa and Voyiatzis, 2005). پلی‌آمین‌ها، پوتریسین، اسپرمیدین و اسپرمین به عنوان تنظیم‌کننده‌های گیاهی می‌باشند، اعتقاد بر این است که در فرآیندهای فیزیولوژیکی از جمله مورفوژنز، تقسیم سلولی، تمایز آوندی، تشکیل شاخه، گل آغازی و توسعه گل نقش دارند (Alcazar *et al.*, 2010; Khezri *et al.*, 2010). پلی‌آمین‌ها به عنوان تعدیل کننده رشد گیاه، و محرک رشد گیاه با افزایش سنتز خود، در بافت‌های گیاهی در حال رشد شناخته شده‌اند (Arias *et al.*, 2005). پلی‌آمین‌ها می‌توانند به عنوان منابع نیتروژنی، و یا سیگنالی برای مولکول‌های تنظیم‌کننده فرآیندهای ریزش میوه‌های کوچک در انگور به کار روند (Aziz, 2003). پلی‌آمین های تجمع یافته در طول مرحله شکوفایی، نقش تنظیمی فعالی به عنوان انبار نیتروژن دارند (Aziz, 2003). پلی‌آمین نه تنها به دلیل تعامل با اجزای سلول بلکه به این خاطر که آنها غلظت فرم آزاد خود را تنظیم می‌کنند از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند (Pritsa and Voyiatzis, 2005). نارنگی‌ها در میان گونه‌های مربوط به جنس سیتروس از بیشترین میزان غیریکنواختی فنوتیپی برخوردارند (Moore, 2001). از بین ارقام متنوع نارنگی، نارنگی کینو که از دورگ‌گیری بین ارقام نارنگی کینگ و ویلولیف به دست آمده است دارای تناوب باردهی شدیدی می‌باشد (Sharma and Awasthi, 1990). همچنین این پدیده بر روی کیفیت و مرغوبیت میوه اثر می‌گذارد، بنابراین کنترل آن یکی از اولویت‌های باغداران در مناطق مرکبات خیز جهان است (Freie, 1992). با توجه به اهمیت و نقش نیتروژن بر میزان و فعالیت پلی‌آمین‌ها در تکوین جوانه‌های زایشی و تشکیل میوه، هدف از این پژوهش بررسی تغییرات پلی‌آمین‌ها در برگ و گره درخت نارنگی کینو و همچنین تعیین مقدار بهینه و زمان مناسب کاربرد نیتروژن، به منظور افزایش عملکرد در اثر محلول‌پاشی زمستانه اوره بود.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در زمستان ۱۳۹۴ بر روی نارنگی رقم 'کینو'، در باغی به مساحت ۴۲ هکتار واقع در شهرستان دزفول در استان خوزستان انجام شد. این باغ از نظر موقعیت جغرافیایی در عرض ۳۲/۲۴ درجه شمالی، طول ۴۸/۲۳ درجه شرقی و در روستای قلعه ربع شهرستان دزفول قرار دارد. در این آزمایش از ۲۷ درخت ۱۷ ساله نارنگی کینو با فاصله ۶×۶ متر و پیوند شده بر روی پایه نارنج، استفاده شد. آنالیز فیزیکی و شیمیایی خاک باغ انجام گردید و نتایج آن در جدول ۱ منعکس می‌باشد. در این پژوهش از اوره (۴۶ درصد نیتروژن) در غلظت‌های صفر، ۰/۷۵ درصد و ۱/۵ درصد استفاده شد. محلول‌پاشی در سال پربار، قبل از گل انگیزی در ۳ زمان، اول دی‌ماه، ۱۵ دی‌ماه و ۳۰ دی‌ماه سال ۹۴ انجام گردید. تیمارها شامل سه غلظت اوره و سه زمان محلول‌پاشی و سه تکرار بر روی ۲۷ درخت اعمال شد. نمونه‌های شاخه‌ها به منظور جداسازی برگ و گره از اطراف درخت در ۱، ۳ و ۵ هفته بعد از زمان محلول‌پاشی، جمع‌آوری و به آزمایشگاه فیزیولوژی گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز منتقل شدند. اندازه‌گیری پلی‌آمین‌ها به روش والتر و جونز (Walter and Geuns, 1986) انجام گردید. به منظور تعیین سطح گلدهی و اندازه‌گیری طول و قطر تخمدان در بهار سال ۹۵، ۱۰ عدد شاخه (به طول ۳۰ سانتی‌متر) به صورت تصادفی از ارتفاع حداقل ۲ متری از سطح زمین و از اطراف هر درخت انتخاب شد، طول و قطر مادگی گل با استفاده از کولیس دیجیتالی اندازه‌گیری گردید. جهت تعیین عملکرد درختان، بعد از برداشت محصول وزن کل میوه‌های برداشت شده برای هر درخت محاسبه و بر اساس کیلوگرم/ درخت گزارش شد. اندازه‌گیری نیتروژن نیز به روش کجلدال (Walling *et al.*, 1989)، با استفاده از سیستم اتوماتیک (کجلدال اتومایزر) طی دو مرحله انجام گرفت. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار به اجرا درآمد و به منظور آنالیز شاخص‌هایی که در طی زمان‌های مشخص (۱، ۳ و ۵ هفته بعد از محلول‌پاشی) نمونه‌برداری صورت گرفته بود از روش اندازه‌گیری تکراری استفاده شد (Rao, 2007). داده‌ها با نرم‌افزارهای SAS و MSTATC آنالیز و به منظور مقایسه میانگین پلی‌آمین‌ها و نیتروژن موجود در برگ و گره از روش برش‌دهی میانگین در سطح ۵ و ۱ درصد و جهت مقایسه میانگین قطر و طول مادگی، تعداد گل و عملکرد از آزمون چند دامنه‌ی دانکن در سطح ۵ و ۱ درصد استفاده گردید (Rao, 2007).

جدول ۱- نتایج آنالیز خاک باغ مورد مطالعه

Table 1- Soil analysis results for studied orchard

عمق خاک Soil depth (cm)	نیتروژن N (%)	فسفر P (ppm)	پتاسیم K (%)	ماده ارگانیک Organic matter (%)	EC (dS.cm^{-1})	pH
0-30	0.52	8.7	0.043	2.33	0.95	8.01
30-60	0.47	7.95	0.45	1.29	0.97	7.98

نتایج

بر اساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، زمان نمونه‌برداری و اثر متقابل زمان نمونه‌برداری و غلظت نیتروژن و نیز اثر متقابل زمان نمونه‌برداری و غلظت نیتروژن و زمان محلول‌پاشی بر میزان نیتروژن برگ و گره در سطح احتمال یک در صد معنی‌دار شد. همچنین زمان نمونه‌برداری و اثر متقابل زمان نمونه‌برداری و غلظت نیتروژن و اثر متقابل زمان نمونه‌برداری و زمان محلول‌پاشی و نیز اثر متقابل زمان نمونه‌برداری و غلظت نیتروژن و زمان محلول‌پاشی بر میزان پوتریسین، اسپرمیدین و اسپرمین برگ و گره در سطح احتمال یک در صد معنی‌دار شد. همچنین اثر غلظت نیتروژن بر قطر گل، طول مادگی، تعداد گل و عملکرد درخت و نیز اثر زمان محلول‌پاشی بر قطر گل، تعداد گل و عملکرد درخت و اثر متقابل غلظت نیتروژن و زمان محلول‌پاشی بر تعداد گل و عملکرد درخت در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد.

پلی‌آمین‌ها و نیتروژن موجود در برگ

مقایسه میانگین برهمکنش اوره، زمان محلول‌پاشی و هفته‌های نمونه‌برداری (جدول ۲) نشان داد که بیشترین مقدار پوتریسین برگ (۳۶/۰۶ نانو مول بر گرم بافت تر) در ۳ هفته بعد از محلول‌پاشی درختان در ۳۰ دی ماه با غلظت ۰/۷۵درصد اوره، و کمترین مقدار پوتریسین برگ (۱۲/۷۳ نانو مول بر گرم بافت تر) در ۵ هفته بعد از محلول‌پاشی در ۱ دی ماه با غلظت صفر اوره به دست آمد که این مقدار، کاهش ۲/۸۳ برابری در مقایسه با بیشترین مقدار پوتریسین داشت. در هر دو غلظت اوره (۰/۷۵ درصد و ۱/۵ درصد) بالاترین میزان پوتریسین در ۳ هفته بعد از محلول‌پاشی در درختان محلول‌پاشی شده در ۳۰ دی ماه مشاهده شد. با توجه به جدول ۲ مشخص گردید که در هر سه زمان محلول‌پاشی (۱ دی‌ماه، ۱۵ دی‌ماه و ۳۰ دی‌ماه)، تا ۳ هفته بعد از محلول‌پاشی، در درختان تیمار شده با ۰/۷۵ درصد و ۱/۵ درصد اوره و شاهد، میزان پوتریسین برگ روند افزایشی داشت و بعد از ۳ هفته، از میزان پوتریسین برگ کاسته شد. همچنین بین میزان پوتریسین برگ در ۱، ۳ و ۵ هفته بعد از محلول‌پاشی در همه تیمارها تفاوت معناداری وجود داشت. در حالی که در محلول‌پاشی ۱۵ دی‌ماه با غلظت ۱/۵ درصد اوره بین هفته‌های نمونه‌برداری تفاوت آماری مشاهده نشد. مطابق با جدول ۲، روند تغییرات اسپرمیدین برگ در واحد زمان و تحت تیمارهای مختلف اوره نشان داد که در طی آزمایش مقدار اسپرمیدین برگ در هر دو غلظت اوره روند کاهشی داشت. همچنین بیشترین میزان اسپرمیدین برگ (۴۱/۰۹ نانو مول بر گرم بافت تر) در ۱ هفته بعد از محلول‌پاشی ۳۰ دی‌ماه با غلظت ۱/۵ درصد اوره به دست آمد، که البته این مقدار با ۳ هفته بعد محلول‌پاشی (۴۰/۳۲ نانو مول بر گرم بافت تر) در همین زمان و با همین غلظت، از لحاظ آماری تفاوت معناداری نداشتند. در حالی که کمترین میزان اسپرمیدین برگ (۱۴/۴۹ نانو مول بر گرم بافت تر) با کاهش ۲/۸۳ برابری نسبت به بیشترین مقدار اسپرمیدین در برگ، در صورت عدم کاربرد اوره در درختان شاهد در ۵ هفته بعد از محلول‌پاشی ۱ دی‌ماه به دست آمد. با توجه به جدول ۲، مشاهده شد که، در همه‌ی تیمارهای آزمایش بیشترین مقدار اسپرمیدین در یک هفته بعد از محلول‌پاشی به دست آمده است. در هر دو تیمار اوره (۰/۷۵ درصد و ۱/۵ درصد)، بیشترین میزان اسپرمیدین برگ (به‌ترتیب ۳۴/۴۴، ۴۱/۰۹ نانو مول بر گرم بافت تر) در ۱ هفته بعد از محلول‌پاشی، در محلول‌پاشی ۳۰ دی‌ماه به دست آمد. همچنین بین میزان اسپرمیدین در ۱، ۳ و ۵ هفته بعد از محلول‌پاشی در همه‌ی تیمارها، به جز در محلول‌پاشی ۱ دی‌ماه، در درختان شاهد، تفاوت معناداری وجود داشت.

اثر برهمکنش زمان نمونه‌برداری، غلظت و زمان محلول‌پاشی، نشان داد (جدول ۲) که با افزایش تعداد هفته‌های بعد از تیمار و با کاهش غلظت اوره، از میزان اسپرمین برگ در طول آزمایش کاسته شده است. در همه‌ی تیمارهای آزمایش، اسپرمین برگ بعد از گذشت یک هفته از زمان محلول‌پاشی کاهش یافت. بیشترین اسپرمین برگ با مقدار ۴۴/۰۱ نانو مول بر گرم بافت تر، در یک هفته بعد از محلول‌پاشی درختان در ۱۵ دی‌ماه با غلظت ۱/۵ درصد اوره به دست آمد. در حالی که کمترین مقدار اسپرمین (۱۶/۰۷ نانو مول بر گرم بافت تر) مربوط به ۵ هفته بعد محلول‌پاشی در ۱ دی‌ماه، در درختانی که محلول‌پاشی نشده بودند گزارش شد. نتایج نشان داد که در هر دو غلظت اوره (۰/۷۵ درصد، ۱/۵ درصد) بالاترین میزان اسپرمین برگ (به‌ترتیب ۳۵/۲۹، ۴۴/۰۱ نانو مول بر گرم بافت تر) در بین زمان‌های محلول‌پاشی، محلول‌پاشی ۱۵ دی‌ماه، و در بین زمان‌های نمونه‌برداری، در یک هفته بعد از تیمار مشاهده شد. همچنین بین میزان اسپرمین در ۱، ۳ و ۵ هفته بعد از محلول‌پاشی در همه‌ی

تیمارها تفاوت معناداری وجود داشت. مقایسه میانگین برهمکنش اوره، زمان محلول‌پاشی و هفته‌های نمونه‌برداری (جدول ۲) نشان داد که بیشترین مقدار نیتروژن برگ (۲/۵۲ درصد) در ۳ هفته بعد از محلول‌پاشی درختان در ۱ دی ماه با غلظت ۱/۵درصد اوره، و کمترین مقدار نیتروژن برگ (۱/۹۳ درصد) در ۵ هفته بعد از محلول‌پاشی در ۳۰ دی ماه با غلظت صفر اوره به دست آمد که این مقدار، کاهش ۱/۳۱ درصدی در مقایسه با بیشترین مقدار نیتروژن داشت. در هر دو غلظت اوره (۰/۷۵ درصد و ۱/۵ درصد) بالاترین میزان نیتروژن در ۳ هفته بعد از محلول‌پاشی در درختان محلول‌پاشی شده در ۱ دی ماه مشاهده شد. با توجه به جدول ۲ مشخص گردید که در محلول‌پاشی ۱ دی ماه و ۱۵ دی ماه، تا ۳ هفته بعد از محلول‌پاشی، در درختان تیمار شده با ۰/۷۵ درصد و ۱/۵ درصد اوره و شاهد، میزان نیتروژن برگ روند افزایشی داشت و بعد از ۳ هفته، از میزان نیتروژن برگ کاسته شد.

جدول ۲- برهمکنش اثر غلظت اوره× زمان محلول پاشی × زمان نمونه‌برداری بر میزان پلی‌آمین‌ها (پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین) و نیتروژن در برگ درخت نارنگی رقم 'کینو'

Table 2- The interaction effect of urea concentration× Spray time ×time sampling on polyamines (Put (Putrescine), Spd (Spermidine), Spm (Spermine)) and N contents in the leaf of Kinnow mandarin tree

غلظت Concentration (%)	زمان محلول‌پاشی Spray time	هفته بعد از محلول‌پاشی Sampling time after Spraying (week)	پوتریسین Put (nmol.g^{-1} F.W)	اسپرمیدین Spd (nmol.g^{-1} F.W)	اسپرمین Spm (nmol.g^{-1} FW)	نیتروژن N (%)
		1	$14.66^{l(ab)}$	$17.10^{l(a)}$	$19.23^{ijk(a)}$	$2.06^{ef(b)}$
	Dec 22	3	$16.22^{l(a)}$	$15.34^{m(a)}$	$17.74^{k(ab)}$	$2.22^{cd(a)}$
	۱ دی	5	$12.73^{m(b)}$	$14.49^{m(a)}$	$16.07^{l(b)}$	$1.94^{g(c)}$
		1	$16.34^{l(b)}$	$20.53^{ij(a)}$	$27.05^{g(a)}$	$2.23^{cd(a)}$
0	Jan 5	3	$18.44^{k(a)}$	$19.05^{jk(ab)}$	$24.88^{h(b)}$	$2.25^{cd(a)}$
	۱۵ دی	5	$14.78^{l(b)}$	$17.33^{kl(b)}$	$19.53^{ij(c)}$	$1.95^{fg(b)}$
		1	$18.49^{k(ab)}$	$23.40^{h(a)}$	$25.15^{h (a)}$	$2.14^{de(a)}$
	Jan 20	3	$20.25^{jk(a)}$	$23.21^{h(a)}$	$20.07^{i(b)}$	$2.11^{e(a)}$
	۳۰ دی	5	$16.47^{l(b)}$	$20.65^{ij(b)}$	$18.06^{jk(c)}$	$1.93^{g(b)}$
		1	$27.55^{ef(b)}$	$25.48^{fg(a)}$	$29.16^{f(a)}$	$2.25^{cd(b)}$
	Dec 22	3	$31.53^{c(a)}$	$23.71^{gh(a)}$	$26.46^{gh(b)}$	$2.46^{a(a)}$
	۱ دی	5	$29.30^{de(b)}$	$21.08^{i(b)}$	$25.44^{h(b)}$	$2.4^{ab(a)}$
		1	$29.48^{d(c)}$	$27.82^{e(a)}$	$35.29^{d (a)}$	$2.28^{c(a)}$
0.75	Jan 5	3	$34.18^{b(a)}$	$27.48^{e(a)}$	$32.21^{e(b)}$	$2.44^{a(a)}$
	۱۵ دی	5	$32.22^{c(b)}$	$25.48^{fg(b)}$	$29.77^{f(c)}$	$2.29^{bc(a)}$
		1	$32.16^{c(b)}$	$34.44^{c(a)}$	$31.41^{e(a)}$	$2.45^{a(a)}$
	Jan 20	3	$36.06^{a(a)}$	$31.20^{d(b)}$	$29.62^{f(a)}$	$2.42^{a(a)}$
	۳۰ دی	5	$34.41^{ab(a)}$	$28.08^{e(c)}$	$27.49^{g(b)}$	$1.95^{fg(b)}$
		1	$20.51^{j(b)}$	$34.15^{c(a)}$	$38.17^{c(a)}$	$2.45^{a(a)}$
	Dec 22	3	$23.19^{i(a)}$	$30.46^{d(b)}$	$35.56^{d(b)}$	$2.52^{a(a)}$
	۱ دی	5	$18.66^{k(b)}$	$25.62^{f(c)}$	$31.54^{e(c)}$	$2.43^{a(a)}$
		1	$25.39^{gh(a)}$	$36.64^{b(a)}$	$44.01^{a (a)}$	$2.46^{a(a)}$
1.5	Jan 5	3	$25.66^{g(a)}$	$33.37^{c(b)}$	$41.48^{b(b)}$	$2.51^{a(a)}$
	۱۵ دی	5	$23.65^{hi(a)}$	$30.69^{d(c)}$	$38.71^{c(c)}$	$2.08^{e(b)}$
		1	$27.34^{f(a)}$	$41.09^{a(a)}$	$40.83^{b(a)}$	$2.42^{a(a)}$
	Jan 20	3	$29.17^{de(a)}$	$40.32^{a(a)}$	$38.62^{c(b)}$	$2.4^{ab(a)}$
	۳۰ دی	5	$25.18^{gh(b)}$	$37.03^{b(b)}$	$35.60^{d(c)}$	$1.94^{fg(b)}$

میانگین‌های دارای حرف همسان در ستون‌ها با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

حروف بیرون پرانتز مقایسه میانگین اثرات متقابل کلی و حروف درون پرانتز مقایسه میانگین به روش برش‌دهی را نشان می‌دهد.

Means in each column followed by same letters don't have any significant difference according to Duncan's multiple range test (*p<0.05*).

Out and inside of parentheses letters indicate comparison overall effects and comparison of the slicing method, respectively.

اما در محلول‌پاشی ۳۰ دی ماه با افزایش تعداد هفته‌های بعد از تیمار از میزان نیتروژن برگ در درختان تیمار شده و شاهد کاسته شد. همچنین بین میزان نیتروژن برگ در ۱، ۳ و ۵ هفته بعد از محلول‌پاشی در ۱۵ دی ماه با ۰/۷۵ اوره تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. در حالی‌که میزان نیتروژن برگ در ۵ هفته بعد از محلول‌پاشی در ۳۰ دی ماه با ۱ و ۳ هفته بعد از محلول‌پاشی اختلاف داشت. همچنین بین ۱، ۳ و ۵ هفته بعد از محلول‌پاشی درختان در ۱ دی ماه با ۱/۵ درصد اوره از نظر میزان نیتروژن اختلاف معناداری وجود نداشت. در حالی‌که میزان نیتروژن در ۵ هفته بعد از محلول‌پاشی در ۱۵ و ۳۰ دی ماه با غلظت ۱/۵ درصد با هفته اول و سوم محلول‌پاشی اختلاف داشت.

پلی‌آمین‌ها و نیتروژن موجود در گره

مقایسه میانگین برهمکنش اوره، زمان محلول‌پاشی و زمان نمونه‌برداری (جدول ۳) نشان داد که بیشترین مقدار پوتریسین گره (۲۴/۱۹ نانو مول بر گرم بافت تر)، در محلول‌پاشی ۳۰ دی ماه با غلظت ۱/۵ درصد اوره در ۱ هفته بعد از زمان محلول‌پاشی به دست آمد. همچنین کمترین مقدار پوتریسین گره (۷/۱۱ نانو مول بر گرم بافت تر)، با کاهش ۳/۴ برابری نسبت به بیشترین مقدار پوتریسین گره، درتیمار عدم کاربرد اوره در ۵ هفته بعد از محلول‌پاشی ۱ دی‌ماه در درختان شاهد مشاهده شد. میزان پوتریسین گره در طول آزمایش رفتاری متفاوت نسبت به پوتریسین برگ از خود نشان داد به طوری که با افزایش تعداد هفته‌های بعد از تیمار و با کاهش غلظت اوره، از میزان پوتریسین گره در طول آزمایش کاسته شد. در همه‌ی تیمارهای آزمایش، پوتریسین گره بعد از گذشت یک هفته از زمان محلول‌پاشی کاهش یافت. نتایج حاکی از آن است که در هر دو غلظت اوره (۰/۷۵ درصد و ۱/۵ درصد)، بالاترین میزان پوتریسین گره، در بین زمان‌های محلول‌پاشی، محلول‌پاشی ۳۰ دی‌ماه، و در بین زمان‌های نمونه‌برداری، در یک هفته بعد از تیمار مشاهده شد. همچنین بین میزان پوتریسین گره در ۱، ۳ و ۵ هفته بعد از محلول‌پاشی در همه‌ی تیمارها تفاوت معناداری وجود داشت. روند تغییرات مقدار اسپرمیدین گره در واحد زمان و تحت تیمارهای محلول‌پاشی اوره (جدول ۳) نشان داد که بیشترین مقدار اسپرمیدین گره (۲۵/۱۸ نانو مول بر گرم بافت تر) در طول آزمایش در درختان تیمار شده در تاریخ ۱۵ دی ماه با غلظت ۱/۵ درصد اوره، در ۱ هفته بعد از اعمال تیمار، به دست آمد. البته این مقدار از لحاظ آماری با ۳ هفته بعد از محلول‌پاشی ۱۵ دی‌ماه با همان غلظت اوره، و همچنین با یک هفته بعد از محلول‌پاشی ۳۰ دی‌ماه با غلظت اوره ۱/۵ درصد تفاوتی نداشتند. کمترین مقدار اسپرمیدین گره (۹/۴۴ نانو مول بر گرم بافت تر) در درختان شاهد در ۳ هفته بعد از محلول‌پاشی در ۱ دی ماه مشاهده شد. همچنین مشخص گردید که درختان محلول‌پاشی شده با اوره، در هر ۳ زمان محلول‌پاشی، میزان اسپرمیدین بیشتری نسبت به شاهد داشتند. نتایج جدول ۳ حاکی از آن است که در تیمار ۰/۷۵درصد و ۱/۵ درصد اوره، بالاترین میزان اسپرمیدین گره به ترتیب ۱۹/۷۰ نانو مول بر گرم بافت تر و ۲۵/۱۸ نانو مول بر گرم بافت تر در درختان محلول‌پاشی شده در ۱۵ دی ماه به دست آمد. در هر دو غلظت اوره، و در محلول‌پاشی ۱، ۱۵ و ۳۰ دی ماه، بیشترین مقدار اسپرمیدین گره در یک هفته بعد از محلول‌پاشی مشاهده شد. همچنین نتایج نشان داد که بین میزان اسپرمیدین گره در ۱، ۳ و ۵ هفته بعد از محلول‌پاشی در هر دو غلظت اوره تفاوت معناداری وجود داشت. مقایسه میانگین برهمکنش اوره، زمان محلول‌پاشی و هفته‌های نمونه‌برداری (جدول ۳) نشان داد که در محلول‌پاشی ۱، ۱۵ و ۳۰ دی ماه، تا ۳ هفته بعد از محلول‌پاشی، در درختان تیمار شده با ۰/۷۵درصد و ۱/۵ درصد اوره و شاهد، میزان اسپرمین گره روند افزایشی داشت و بعد از ۳ هفته، از میزان اسپرمین گره کاسته شد. بیشترین مقدار اسپرمین گره (۳۴/۴۱ نانو مول بر گرم بافت تر) در ۳ هفته بعد از محلول‌پاشی درختان در ۳۰ دی ماه با غلظت ۰/۷۵٪ اوره، و کمترین مقدار اسپرمین گره (۱۱/۲۰ نانو مول بر گرم بافت تر) در ۵ هفته بعد از محلول‌پاشی در ۱ دی ماه با غلظت صفر اوره به دست آمد که این مقدار، کاهش ۳/۰۷ برابری در مقایسه با بیشترین مقدار اسپرمین را داشت. در هر دو غلظت اوره (۰/۷۵ درصد و ۱/۵ درصد) بالاترین میزان اسپرمین در ۳ هفته بعد از محلول‌پاشی در درختان محلول‌پاشی شده در ۳۰ دی ماه مشاهده شد. همچنین بین میزان اسپرمین گره در ۱، ۳ و ۵ هفته بعد از محلول‌پاشی در همه تیمارها تفاوت معناداری وجود داشت.

بیشترین مقدار نیتروژن گره (۱/۷۳ درصد)، در محلول‌پاشی ۳۰ دی ماه با غلظت ۱/۵درصد اوره در ۳ هفته بعد از زمان محلول‌پاشی به دست آمد (جدول ۳). همچنین کمترین مقدار نیتروژن گره (۱/۰۳ درصد)، با کاهش ۱/۶۸ درصدی نسبت به بیشترین مقدار نیتروژن گره، در صورت عدم کاربرد اوره در یک هفته بعد از محلول‌پاشی ۱۵ دی ماه در درختان شاهد مشاهده شد. نتایج حاکی از آن است که در هر دو غلظت اوره (۰/۷۵ و ۱/۵ درصد)، در محلول‌پاشی ۱ و ۳۰ دی ماه، در درختان تیمار شده با اوره تا ۳ هفته بعد از اعمال تیمار بر میزان نیتروژن گره افزوده شد و پس از ۳ هفته، روند کاهشی از خود نشان دادند. میزان نیتروژن گره در درختان محلول‌پاشی شده در ۱۵ دی ماه، روند متفاوتی نسبت به زمان‌های دیگر محلول‌پاشی از خود نشان دادند به‌طوری‌که تا ۳ هفته بعد از تیمار از میزان نیتروژن گره کاسته شد و پس از آن تا هفته پنجم روند افزایشی داشتند. نتایج نشان داد که در درختان محلول‌پاشی شده در ۳۰ دی ماه در تیمار ۰/۷۵ درصد و ۱/۵ درصد اوره، بالاترین مقدار نیتروژن گره (به ترتیب

۱/۶۲ درصد و ۱/۷۳ درصد) در ۳ هفته بعد از محلول‌پاشی، به دست آمد. در حالی که در درختان محلول‌پاشی شده در ۱۵ دی ماه، با غلظت ۰/۷۵ درصد، بیشترین میزان نیتروژن گره (۱/۵۷ درصد) در ۵ هفته بعد از تیمار مشاهده شد. بیشترین میزان نیتروژن گره در درختان محلول‌پاشی شده در تاریخ ۳۰ دی ماه، در ۳ هفته بعد از تیمار به دست آمد. همچنین نتایج نشان داد که بین میزان نیتروژن گره در ۱، ۳ و ۵ هفته بعد از محلول‌پاشی در ۱، ۱۵ و ۳۰ دی ماه با غلظت ۱/۵ درصد اوره، تفاوت معناداری وجود نداشت.

جدول ۳- برهمکنش اثر غلظت اوره× زمان محلول پاشی × زمان نمونه‌برداری بر میزان پلی‌آمین‌ها (پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین) و نیتروژن در گره شاخه نارنگی رقم 'کینو'

Table 3- The interaction effect of urea concentration ×spray time ×time sampling on polyamines (Put (Putrescine), Spd (Spermidine), Spm (Spermine)) and N contents in the shoot nodes of Kinnow mandarin tree

غلظت Concentration (%)	زمان محلول‌پاشی Spray time	هفته بعد از محلول‌پاشی Sampling time after Spraying (week)	پوتریسین Put (nmol.g^{-1} F.W)	اسپرمیدین Spd (nmol.g^{-1} F.W)	اسپرمین Spm (nmol.g^{-1} FW)	نیتروژن N (%)
0	Dec 22 ۱ دی	1	$9.69^{kl(a)}$	$11.21^{hij(a)}$	$11.59^{n(b)}$	$1.27^{f-i(a)}$
		3	$8.89^{l(ab)}$	$9.44^{k(b)}$	$14.41^{jkl\ (a)}$	$1.18^{ij(a)}$
		5	$7.11^{m(b)}$	$9.63^{jk(ab)}$	$11.20^{n(b)}$	$1.25^{g-i(a)}$
	Jan 5 ۱۵ دی	1	$10.40^{j-l(a)}$	$14.14^{g(a)}$	$14.09^{kl(ab)}$	$1.03^{j(c)}$
		3	$9.73^{kl(a)}$	$12.43^{h(b)}$	$15.62^{jk(a)}$	$1.22^{hi(b)}$
		5	$9.55^{kl(a)}$	$10.55^{ijk\ (c)}$	$12.16^{mn(b)}$	$1.43^{b-g(a)}$
	Jan 20 ۳۰ دی	1	$12.31^{hi(a)}$	$11.65^{hi(a)}$	$16.16^{ij(b)}$	$1.26^{g-i(a)}$
		3	$11.80^{ij(ab)}$	$11.55^{hi(a)}$	$18.04^{h(a)}$	$1.48^{b-e(a)}$
		5	$10.60^{jk(b)}$	$10.16^{i-k(a)}$	$13.62^{lm(c)}$	$1.40^{c-g(a)}$
0.75	Dec 22 ۱ دی	1	$14.39^{gf(a)}$	$16.07^{f(a)}$	$24.59^{e(b)}$	$1.36^{e-i(a)}$
		3	$12.55^{hi(b)}$	$14.42^{g(b)}$	$28.37^{c(a)}$	$1.45^{b-f(a)}$
		5	$10.33^{j-l(c)}$	$12.18^{h(c)}$	$26.53^{d(ab)}$	$1.37^{d-h(a)}$
	Jan 5 ۱۵ دی	1	$15.61^{ef(a)}$	$19.70^{cde(a)}$	$25.60^{de(c)}$	$1.44^{b-f(ab)}$
		3	$15.79^{ef(a)}$	$18.55^{e(a)}$	$30.36^{b(a)}$	$1.25^{g-i(b)}$
		5	$14.10^{g(a)}$	$16.38^{f(b)}$	$28.44^{c(b)}$	$1.57^{a-c(a)}$
	Jan 20 ۳۰ دی	1	$20.86^{c(a)}$	$18.21^{e\ (a)}$	$28.54^{c(b)}$	$1.41^{c-g(a)}$
		3	$19.91^{c(a)}$	$15.44^{fg(b)}$	$33.41^{a(a)}$	$1.62^{ab(a)}$
		5	$16.06^{e(b)}$	$14.50^{g(b)}$	$30.07^{bc(b)}$	$1.50^{b-e(a)}$
1.5	Dec 22 ۱ دی	1	$20.42^{c(a)}$	$21.11^{bc(a)}$	$17.44^{hi(b)}$	$1.52^{b-e(a)}$
		3	$18.36^{d(b)}$	$19.23^{c-e(ab)}$	$19.74^{g(a)}$	$1.57^{a-c(a)}$
		5	$13.65^{gh(c)}$	$18.63^{e(b)}$	$15.70^{jk(b)}$	$1.20^{hi(b)}$
	Jan 5 ۱۵ دی	1	$22.37^{b(a)}$	$25.18^{a(a)}$	$22.07^{f(a)}$	$1.58^{a-c(a)}$
		3	$20.18^{c(b)}$	$24.04^{a(a)}$	$21.86^{f(a)}$	$1.29^{f-i(b)}$
		5	$18.09^{d(c)}$	$21.44^{b(b)}$	$20.10^{g(a)}$	$1.51^{b-e(a)}$
	Jan 20 ۳۰ دی	1	$24.19^{a(a)}$	$23.69^{a(a)}$	$24.41^{e(a)}$	$1.55^{a-d(a)}$
		3	$22.51^{b(b)}$	$20.80^{b-d(b)}$	$26.16^{de(a)}$	$1.73^{a(a)}$
		5	$22.66^{b(b)}$	$19.54^{c-e(b)}$	$22.19^{f(b)}$	$1.48^{b-e(a)}$

میانگین‌های دارای حرف همسان در ستون‌ها در آزمون دانکن در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

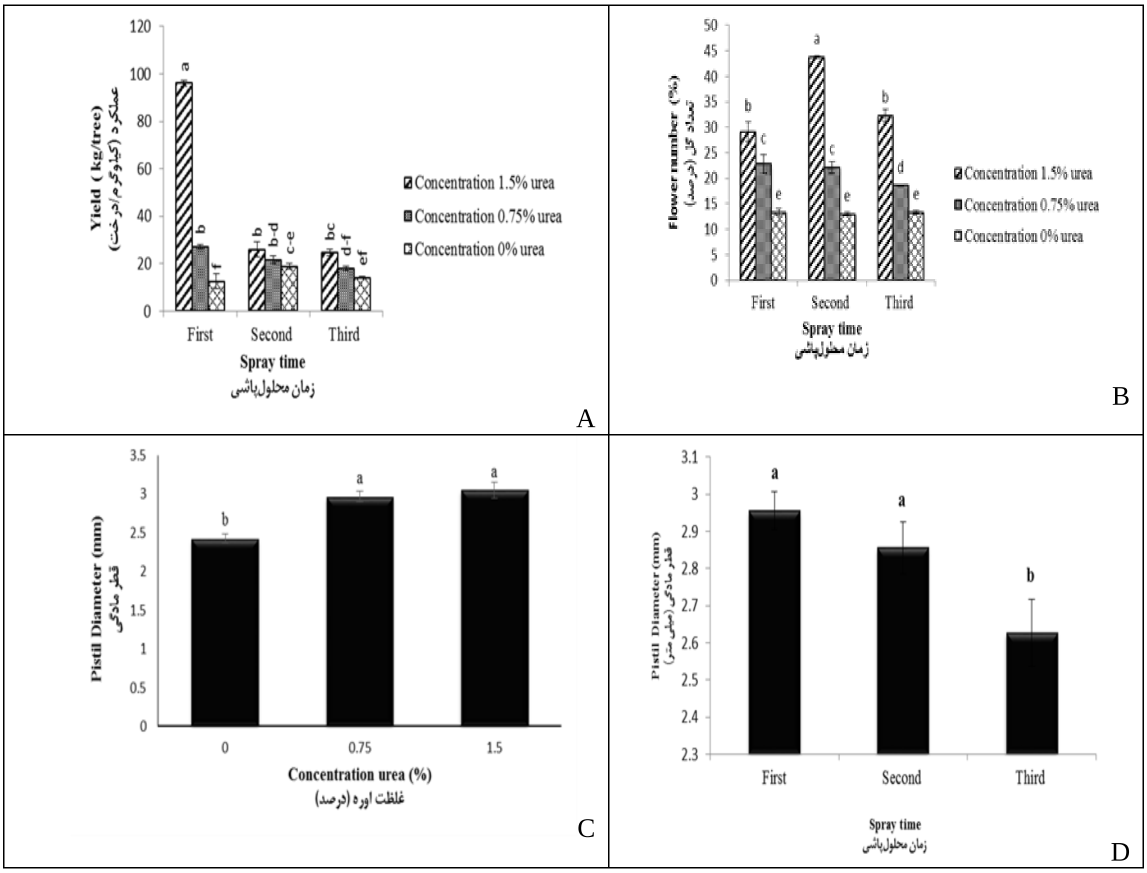
حروف بیرون پرانتز مقایسه میانگین اثرات متقابل کلی و حروف درون پرانتز مقایسه میانگین به روش برش‌دهی را نشان می‌دهد.

Means in each column followed by same letters don’t have any significant difference according to Duncan test ($p<0.05$).
Out parentheses letters means comparison overall effects and inside of parentheses letters means comparison of the slicing method.

عملکرد، تعداد گل، طول و قطر مادگی

نتایج برهمکنش اثر زمان محلول‌پاشی در غلظت اوره بر میزان عملکرد نشان داد (شکل A-۱) که با افزایش غلظت اوره عملکرد افزایش یافت. به طوری‌که بیشترین عملکرد (۹۶/۱۱ کیلوگرم در

درخت) مربوط به درختان محلول‌پاشی شده با غلظت اوره ۱/۵ درصد، در زمان محلول‌پاشی ۱ دی ماه بود. در واقع میزان عملکرد در این تیمار نسبت به تیمار شاهد ۷/۶۴ برابر افزایش داشت. همچنین مشخص شد که در هر ۳ زمان محلول‌پاشی بیشترین عملکرد مربوط به درختان تیمار شد با غلظت اوره ۱/۵ درصد بود. با توجه به شکل – ۱B، مشخص شد که درختان تیمار شده با اوره ۱/۵ درصد نسبت به دیگر تیمارها و درختان تیمار نشده، تراکم گل بیشتری داشته‌اند. به طوری‌که درختان محلول‌پاشی شده در ۱۵ دی ماه، با اوره ۱/۵ درصد بیشترین تراکم گل (۴۳/۷۵ درصد) را نسبت به سایر تیمارها از خود نشان دادند. اثر غلظت اوره بر قطر و طول مادگی در شکل ۱-C آورده شده است. نتایج حاکی از آن است که با افزایش غلظت اوره بر میزان قطر و طول مادگی افزوده شد و همچنین قطر مادگی در درختان محلول‌پاشی شده در ۳۰ دی ماه در مقایسه با درختان محلول‌پاشی در ۱ دی ماه از مقدار کمتری برخوردار بود (شکل ۱-D).



شکل ۱- A: اثر برهمکنش غلظت اوره ×زمان محلول‌پاشی بر میزان عملکرد نارنگی رقم 'کینو'. B: اثر برهمکنش غلظت اوره ×زمان محلول‌پاشی بر تراکم گلدهی نارنگی رقم 'کینو'. C: اثر غلظت اوره بر قطر مادگی گل نارنگی رقم 'کینو'. D: اثر زمان محلول‌پاشی بر قطر مادگی گل نارنگی رقم 'کینو'

Figure 1- A: The interaction effect of urea concentration ×spray time on yield of Kinnow mandarin tree. B: The nteraction effect of urea concentration ×spray time on flower number of Kinnow mandarin tree. C: The effect of urea concentration on pistil diameter of Kinnow mandarin tree. D: The effect of spray time on pistil diameter of Kinnow mandarin tree (DMRT, *p≤0.05*)

بحث

اوره به طور معمول برای محلول‌پاشی درختان مرکبات در مقیاس بزرگ در جهان به عنوان مکمل تأمین نیتروژن در تعداد گل، میوه بندی و میزان محصول موثر است (Alberigo, 1999). محلول‌پاشی اوره در زمان مناسب با افزایش سطح ترکیبات حاوی نیتروژن به ویژه پلی‌آمین‌ها، موجب تحریک رشد زایشی گیاه می‌شود. پلی‌آمین‌ها نقش مهمی در رشد جوانه و گل آغازی و نیز در حذف خواب جوانه ایفا می‌کنند. همچنین نقش مهمی در بازیافت کربن و نیتروژن در طول القاء جوانه دارند. این ترکیبات در توسعه اندام‌های زایشی وظیفه مهمی را بر عهده دارند (Roussos *et al*., 2004).

نتایج نشان داد که سطح نیتروژن در برگ و گره، سه هفته پس از اولین زمان محلول‌پاشی افزایش یافت. همین افزایش موقت که در

مرحله خاصی از فنولوژی گیاه که شامل انگیزش و تمایزیابی جوانه‌های گل می‌باشد به طور معناداری موجب تحریک رشد زایشی، افزایش تعداد گل، رشد تخمدان و عملکرد گردید. محلول‌پاشی اوره موجب افزایش سطح آمونیوم برگ و تسریع در بیوسنتز آرژنین می‌شود که خود منجر به افزایش پلی‌آمین‌ها شده، که پس از انتقال به جوانه‌ها، انگیزش و آغازش گل و رشد تخمدان را تحریک نموده و افزایش عملکرد را نیز داشته است (Roussos *et al.*, 2004). ثابت شده که پلی‌آمین‌های آزاد در فرآیندهای گلدهی مانند رشد و نمو اندام‌های گل، در تشکیل میوه و رشد اولیه میوه نقش دارند. تغییرات در میزان پلی‌آمین‌های آزاد و پیوسته مربوط به رشد مرکبات به دست آمده (Alburquerque *et al.*, 2006). غلظت پلی‌آمین‌ها در این آزمایش در اندام‌های مورد سنجش متفاوت بود. به طوری که مقدار پلی‌آمین‌ها در گره‌ها نسبت به برگ‌ها کمتر بود. این تفاوت غلظت پلی‌آمین‌ها در میان اندام‌ها، توسط دیگر محققین نیز گزارش شده است (Konigshofer, 1989; Roussos *et al.*, 2004). غلظت پلی‌آمین‌ها بسته به غلظت اوره و زمان محلول‌پاشی، متفاوت بود. به طوری که اختلاف معناداری در غلظت پلی‌آمین‌ها در هر دو غلظت اوره (۰/۷۵ درصد و ۱/۵ درصد) مشاهده شد. همچنین مشخص گردید که بیشترین میزان پلی‌آمین‌ها در برگ و گره در غلظت ۱/۵ درصد به دست آمد. تنها میزان پوتریسین در برگ و اسپرمین در گره در غلظت ۰/۷۵ درصد بیشترین میزان را نشان دادند. در این آزمایش محتوای اکثر پلی‌آمین‌ها در همه‌ی اندام‌ها مورد آزمایش در طول دوره کاهش یافت. کاهش پلی‌آمین‌های درون‌زا با تحریک اکسیداسیون خود توسط پلی‌آمین اکسیدازها صورت می‌گیرد (Smith, 1985)، کاهش در میزان بیوسنتز و پیوستگی با دیگر ترکیبات، مانند هیدروکسی اسید سینامیک و آمین‌ها (Smith, 1985) نیز اتفاق می‌افتد. با این وجود، فرم‌های پیوسته پلی‌آمین‌ها در این آزمایش اندازه‌گیری نشدند. کاهش محتوای پلی‌آمین‌های آزاد می‌تواند به خاطر پیوستگی و یا اتصال به غشای سلول (با فسفولیپید یا پروتئین) باشد. با این وجود مشخص شد که غلظت پلی‌آمین‌ها در برگ‌ها بیشتر از گره‌ها بود و به تدریج در طول آزمایش کاهش یافت. این بدان معنی است که غلظت پلی‌آمین‌ها به طور قابل توجهی در برگ‌ها، به دلیل انتقال به گره کاهش یافته است. شواهدی از انتقال پلی‌آمین‌ها در میان اندام‌ها وجود دارد (Antognoni *et al.*, 1998) و این می‌تواند دلیل مهم دیگری برای کاهش تدریجی غلظت پلی‌آمین‌ها در برگ‌ها باشد. علاوه بر این، بیشترین محتوی پوتریسین و اسپرمیدین برگ، و پوتریسین و اسپرمین گره بعد از محلول‌پاشی ۳۰ دی ماه مشاهده شد. همچنین مشخص شد که روند تغییرات پلی‌آمین‌ها در گره در طول آزمایش متفاوت با برگ بود، بجز اسپرمیدین که در هر دو اندام رفتاری مشابه از خود نشان داد. نقش پلی‌آمین‌ها در زمان القا و تمایز گل می‌تواند مهم باشد. مطالعات نشان داده که بیشترین غلظت پلی‌آمین‌ها در گیاه با مناطق زیست‌شناختی مرتبط است (El-Yazal and Rady, 2012). با توجه به شکل ۱-B مشخص شد که محلول‌پاشی با غلظت ۱/۵ درصد اوره، در هر ۳ زمان محلول‌پاشی (۱، ۱۵ و ۳۰ دی ماه) باعث افزایش تعداد گل گردید. البته بیشترین تعداد گل بعد محلول‌پاشی ۱۵ دی ماه مشاهده شد. همچنین نتایج نشان داد که اسپرمین پلی‌آمین غالب در برگ‌ها و گره‌ها (به‌ترتیب ۴۴/۰۱ نانو مول بر گرم بافت تر، ۳۳/۴۱ نانو مول بر گرم بافت تر) بود. تمایز گل در مرکبات در طول دوره‌ی دی تا بهمن ماه (ژانویه تا فوریه) اتفاق می‌افتد. یک پیک از اسپرمین در برگ و گره در همین زمان مشاهده شد که هم زمان با تمایز مورفولوژیکی قسمت‌های گل درون جوانه‌ها بود. این نتایج با یافته‌های دیگر محققین در مورد زیتون مطابقت داشت (Prítsa and Voyiatzís., 2004). با توجه به اینکه پلی‌آمین‌ها با تقسیم سلولی و سنتز ماکرومولکول‌ها در طول رشد اندام‌های گیاهی در ارتباط هستند می‌توان گفت که یک رابطه احتمالی بین پلی‌آمین‌ها و تمایز وجود دارد (Prítsa and Voyiatzís, 2004). علاوه بر این، بیشترین میزان اسپرمین برگ و اسپرمیدین گره بعد از محلول‌پاشی ۱۵ دی ماه مشاهده شد. این نتایج نشان می‌دهند که اسپرمین و اسپرمیدین بیش از پوتریسین در ارگانوژنز نقش دارند. محققین نیز گزارش کردند که اسپرمیدین و اسپرمین، تقسیم سلولی، ارگانوژنز و پیری را کنترل می‌کنند (Sood and Nagar, 2003). مطالعات نشان می‌دهند که پلی‌آمین‌های اسپرمیدین و اسپرمین به طور فراوانی در تخمدان‌های نارنگی در مرحله شکوفایی و ریزش گلبرگ‌ها وجود دارد که این مطابق با داده‌های گزارش شده برای پرتقال‌های والنسیا و واشنگتن ناول می‌باشد (Arias *et al.*, 2005). در مطالعه حاضر نیتروژن رابطه مثبت و قوی با پوتریسین، اسپرمیدین و اسپرمین برگ و گره به نمایش گذاشته است ، در حالی که اسپرمیدین، اسپرمین و نیتروژن برگ، و همچنین پوتریسین و اسپرمیدین گره رابطه مثبت و قوی با تعدادگل نشان دادند که می‌تواند به معنی یک واکنش اولیه برای افزایش عملکرد باشد (جدول ۴). با توجه به اینکه درختان محلول‌پاشی شده در تاریخ ۱۵ دی ماه، با اوره ۱/۵ درصد نسبت به سایر تیمارها تعدادگل بیشتری داشتند اما به دلیل ریزش گل و همچنین ریزش میوه در خرداد ماه، عملکرد کمتری نسبت به درختان محلول‌پاشی شده در ۱ دی ماه با همان غلظت داشتند. نتایج این پژوهش نشان داد که بالاترین غلظت اوره (۱/۵ درصد)، در محلول‌پاشی ۱ دی ماه بیشترین عملکرد را نسبت به دیگر تیمارها از خود نشان داد. از آنجایی که تمایزیابی در بهمن ماه (در شرایط دزفول) اتفاق می‌افتد می‌توان انتظار داشت که محلول‌پاشی ۱

دی ماه، قبل از تمایزیابی انجام شده و درخت نیتروژن مورد نیاز خود را دریافت کرده است. به لحاظ اینکه در شرایط دزفول عامل طبیعی القاء کننده گل در مرکبات دمای پایین در زمستان است، محلول‌پاشی زمستانه اوره به همراه عامل طبیعی سرما موجب تحریک انگیزش گل در تعداد بیشتری از جوانه‌ها شده، که بدین ترتیب سطح گلدهی افزایش یافته است. علاوه بر این، نتایج جدول همبستگی (جدول ۴) نشان داد که نیتروژن برگ با عملکرد (r^2=0.67)، تراکم گل (r^2=0.78) و قطر مادگی (r^2=0.95) همبستگی مثبت و معناداری داشت. نتایج این پژوهش با نتایج به دست آمده توسط سایر محققین مطابقت داشت (Akbari Chermahini et al., 2010). به‌طوری‌که

مطالعات نشان داده که کاربرد اوره در درختان ۳۰ ساله پرتقال واشینگتن ناول، به صورت محلول‌پاشی در ۱۵ ژانویه، که زمان تقریبی گل‌انگیزی در شرایط کالیفرنیا می‌باشد سبب افزایش تعداد گل، عملکرد محصول از نظر وزن کل میوه و تعداد میوه در ۳ سال متوالی شده است (Lovatt et al., 1988). همچنین با دو بار محلول‌پاشی اوره در فواصل زمانی ۱۴-۱۰ روز، در حدود ۸-۶ هفته قبل از گلدهی به طور قابل توجهی عملکرد پرتقال شاموتی افزایش یافت (Rabe and Walt, 1994). گزارش شده که ۲ بار محلول‌پاشی (قبل از گلدهی و بعد از تشکیل میوه) با اوره (۰/۳ درصد) در درختان نارنگی کینو، باعث افزایش مقدار نیتروژن به دامنه بهینه در مقایسه با درختان شاهد که دارای کمبود نیتروژن بودند، گردید. به طوری که در درختان محلول‌پاشی شده، باعث افزایش عملکرد میوه، با افزایش میانگین تعداد میوه و متوسط وزن میوه در درخت گردید. که ممکن است به دلیل استفاده بیشتر از نیتروژن در دوره بحرانی گلدهی و تنظیم میوه باشد (Khan et al., 2009).

جدول ٤- ضرائب همبستگی صفات اندازه‌گیری شده در برگ و گره

Table 4- Correlation coefficients of the measured traits in leaf and node

	Put leaf پوترسین برگ	Spd leaf اسپرمیدین برگ	Spm leaf اسپرمین برگ	N leaf نیتروژن برگ	Put node پوترسین گره	Spd node اسپرمیدین گره	Spm node اسپرمین گره	N node نیتروژن گره	Flower density تراکم گل	Pistil diameter قطر مادگی	Pistil length طول مادگی
Put leaf پوترسین برگ	1	0.68	0.57	0.57	0.68	0.49	0.99**	0.72*	0.34	0.54	-0.55
Spd leaf اسپرمیدین برگ		1	0.9**	0.56	0.99**	0.89**	0.58	0.97**	0.78*	0.53	-0.75*
Spm leaf اسپرمین برگ			1	0.745*	0.90**	0.99**	0.49	0.76*	0.93**	0.72*	-0.76*
N leaf نیتروژن برگ				1	0.57	0.73*	0.55	0.56	0.67*	0.75**	-0.74*
Put node پوترسین گره					1	0.98**	0.58	0.93**	0.79*	0.54	-0.73*
Spd node اسپرمیدین گره						1	0.46	0.75*	0.94**	0.72*	-0.71*
Spm node اسپرمین گره							1	0.79*	0.31	0.52	-0.53
N node نیتروژن ره								1	0.64	0.47	-0.67*
Flower Density تراکم گل									1	0.69*	-0.55
Pistil Diameter قطر مادگی										1	-0.63
Pistil Length طول مادگی											1

* و **: معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵ و ۰/۰۱

*and **. significant at the 0.05 and 0.01 of probability levels, respectively.

نتیجه‌گیری

در این مطالعه اثر محلول‌پاشی اوره در طول زمستان در برگ‌ها و گره‌های درختان نارنگی کینو بررسی شد و محتوی پلی‌آمین‌های پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین در تیمارها ارزیابی گردید. نتایج نشان داد که کاربرد برگی اوره در زمستان منجر به افزایش درون‌زا قابل توجه پلی‌آمین‌ها و نیتروژن در برگ و گره‌های درختان نارنگی کینو گردید. همچنین عملکرد، تعداد گل و قطر مادگی با محلول‌پاشی اوره افزایش یافت. این احتمال وجود دارد که پلی‌آمین‌های آزاد بر فرآیندهای گلدهی تاثیرگذار باشند.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از همکاری های بیدریغ جناب آقای مهندس اسلامی به خاطر انجام این پژوهش در باغ ایشان و معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز به خاطر تأمین مالی این تحقیق، تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

1. Akbari Chermahini, S, Moallemi, N., & Zargar, A.S. (2010). Effect of winter foliar application of urea on some quantitative and qualitative characters of flower and fruit set of orange cv ‘Valencia’. *The Society for Advancement of Horticulture*, *12*(1), 59-61.
2. Albrigo, L. (1999). Effects of foliar applications of urea or nutriphite on flowering and yields of Valencia orange trees. In *Proceedings of the Florida State Horticultural Society* (Vol. 112, pp. 1-4).
3. Alburquerque, N., Egea, J., Burgos, L., MartÍnez-Romero, D., Valero, D., & Serrano, M. (2006). The influence of polyamines on apricot ovary development and fruit set. *Annals of Applied Biology*, *149*(1), 27-33. https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2006.00067.x
4. Alcázar, R., Altabella, T., Marco, F., Bortolotti, C., Reymond, M., Koncz, C., & Tiburcio, A.F. (2010). Polyamines: molecules with regulatory functions in plant abiotic stress tolerance. *Planta*, *231*, 1237-1249.
5. Antognoni, F., Fornalè, S., Grimmer, C., Komor, E., & Bagni, N. (1998). Long-distance translocation of polyamines in phloem and xylem of *Ricinus communis* L. plants. *Planta*, *204*, 520-527.
6. Arias, M., Carbonell, J., & Agustí, M. (2005). Endogenous free polyamines and their role in fruit set of low and high parthenocarpic ability citrus cultivars. *Journal of Plant Physiology*, *162*(8), 845-853. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2005.01.011
7. Aziz, A. (2003). Spermidine and related-metabolic inhibitors modulate sugar and amino acid levels in *Vitis vinifera* L.: possible relationships with initial fruitlet abscission. *Journal of Experimental Botany*, *54*(381), 355-363. https://doi.org/10.1093/jxb/erg029
8. Benhamou, L., El-Otmani, M., Goumari, M., Talhi, M., Charif, L., Srairi, I., & Lovatt, C.J. (2004, February). The potential use of GA 3 and urea to manipulate flowering and reduce alternate-bearing pattern of the ‘Nour’Clementine mandarin. In *Proc. Intl. Soc. Citriculture* (Vol. 2, pp. 479-483).
9. El-Otmani, M., Goumari, M., Srairi, I., Lbrek, A., Charif, L., & Lovatt, C.J. (2004). Heavy fruit load and late harvest inhibit flowering of the ‘Nour’Clementine mandarin. In *Proceedings of the International Society of Citriculture* (Vol. 2, pp. 525-527).
10. El-Yazal, M.A.S., & Rady, M.M. (2012). Changes in nitrogen and polyamines during breaking bud dormancy in “Anna” apple trees with foliar application of some compounds. *Scientia Horticulturae*, *136*, 75-80. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2012.01.001
11. Freie, R.L., & Young Jr, H.V. (1992). *Florida agricultural statistics: citrus summary 1990-1991*. Florida Agricultural Statistics Service, Orlando, FL.
12. Iglesias, D.J., Cercós, M., Colmenero-Flores, J.M., Naranjo, M.A., Ríos, G., Carrera, E., & Talon, M. (2007). Physiology of citrus fruiting, *Brazilian Journal of Plant Physiology*, *19*(4), 333-362.
13. Karamnezhad, F., Moallemi, N., & Khaleghi, E. (2018). Effect of different levels of urea and different times of foliar application on biochemical characteristics in the Kinnow Mandarin trees, *Iranian Journal of Horticultural Science and Technology*, *19*(3). (In Persian)
14. Khan, A.S., Malik, A.U., Pervez, M.A., Saleem, B.A., Rajwana, I.A., Shaheen, T., & Anwar, R. (2009). Foliar application of low-biuret urea and fruit canopy position in the tree influence the leaf nitrogen status and physico-chemical characteristics of Kinnow mandarin (*Citrus reticulata* Blanco). *Pakistan Journal Botany*, *41*(1), 73-85.
15. Khezri, M., Talaie, A., Javanshah, A., & Hadavi, F. (2010). Effect of exogenous application of free polyamines on physiological disorders and yield of ‘Kaleh-Ghoochi’pistachio shoots (*Pistacia vera* L.). *Scientia Horticulturae*, *125*(3), 270-276. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2010.03.014
16. Könrgshofer, H. (1989). Seasonal changes in polyamine content in different parts of juvenile spruce trees [*Picea abies* (L.) Karst.]. *Journal of Plant Physiology*, *134*(6), 736-740.

17. Kytöviita, M.M., & Sarjala, T. (1997). Effects of defoliation and symbiosis on polyamine levels in pine and birch, *Mycorrhiza*, *7*(2), 107-111. https://doi.org/10.1016/S0176-1617(89)80036-7
18. Lovatt, C.J., Zheng, Y., & Hake, K.D. (1988). Demonstration of a change in nitrogen metabolism influencing flower initiation in Citrus. *Israel Journal of Botany*, *37*(2-4), 181-188.
19. Moore, G.A. (2001). Oranges and lemons: clues to the taxonomy of Citrus from molecular markers. *TRENDS in Genetics*, *17*(9), 536-540. https://doi.org/10.1016/S0168-9525(01)02442-8
20. Pritsa, T.S., & Voyiatzis, D.G. (2004). Seasonal changes in polyamine content of vegetative and reproductive olive organs in relation to floral initiation, anthesis, and fruit development. *Australian Journal of Agricultural Research*, *55*(10), 1039-1046. https://doi.org/10.1071/AR04056
21. Pritsa, T.S., & Voyiatzis, D.G. (2005). Correlation of ovary and leaf spermidine and spermine content with the alternate bearing habit of olive. *Journal of Plant Physiology*, *162*(11), 1284-1291. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2005.01.017
22. Rabe, E., & Walt, H.P. (1993). Effects of pre-blossom low-biuret urea sprays on yield improvement in specific citrus cultivars. *Citrus Journal*, *3*, 26-28.
23. Rao, G.N. (2007). *Statistics for agricultural sciences*. BS Publications.
24. Roussos, P.A., Pontikis, C.A., & Zoti, M.A. (2004). The role of free polyamines in the alternate-bearing of pistachio (*Pistacia vera* cv. Pontikis). *Trees*, *18*, 61-69.
25. Sharma, R.K., & Awasthl, R.P. (1990). Effect of growth regulators on crop regulation of kinnow (*Citrus nobilis* X *Citrus deliciosa*). *Indian Journal of Horticulture*, *47*(2), 162-166.
26. Smith, T.A. (1985). Polyamines. *Annual Review of Plant Physiology*, *36*(1), 117-143.
27. Sood, S., & Nagar, P.K. (2003). The effect of polyamines on leaf senescence in two diverse rose species. *Plant Growth Regulation*, *39*, 155-160.
28. Valiente, J.I., & Albrigo, L.G. (2004). Flower bud induction of sweet orange trees [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck]: effect of low temperatures, crop load, and bud age. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, *129*(2), 158-164. https://doi.org/10.21273/JASHS.129.2.0158
29. Walling, P.J. (1989). U.S. Patent No. 4,802,008. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
30. Walter, H.J.P., & Geuns, J.M. (1987). High speed HPLC analysis of polyamines in plant tissues. *Plant Physiology*, *83*(2), 232-234. https://doi.org/10.1104/pp.83.2.232

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

CC BY

Research Article
Vol. 37, No. 2, Summer 2023, p. 481-495

Effect of the Wild Eggplant Rootstock (*Solanum torvum*) on the Drought Tolerance of Tomato Based on the Growth Indecies and Physiological Parameters

D. Akhgar[1], H.R. Karimi[2]*, S.R. Sahhafi [3], S.H. Mirdehghan [4]

Received: 18-06-2022 Revised: 14-12-2022 Accepted: 14-12-2022 Available Online: 14-12-2022	**How to cite this article:** Akhgar, D., Karimi, H.R., Sahhafi, S.R., & Mirdehghan, S.H. (2023). Effect of the wild eggplant rootstock (*Solanum torvum*) on the drought tolerance of tomato based on the growth indecies and physiological parameters. *Journal of Horticultural Science*, *37*(2), 481-495. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jhs.2022.76513.1170

Introduction

Drought stress in tomatoes reduces fruit quality and yield, also fall leaves and cause of blossom rot. It has been reported that drought stress reduces cell division and causes the stomata to close, followed by a decrease in the flow of carbon dioxide to the mesophyll cells of the leaf. Several methods have been proposed to overcome the drought stress in tomato plants, which can be mentioned the use of drought tolerance genotypes, genetic engineering to identify drought resistant genes and transfer them to sensitive plants, as well as the use of tolerancet rootstocks. It has reported that type of rootstock can effected on tolerance of tomato plants to drought stress. For this reason, the present study was conducted to investigate the effect of wild eggplant rootstock on the drought tolerance of two tomato cultivars.

Material and Methods

In order to find the effect of the wild eggplant rootstock on the tolerance of two tomato cultivars, a factorial experiment was conducted as completely randomized design with two factors. Factors were included irrigation period three levels of 3 (control), 6 and 9-day and grafting combination at 6 levels involved non-grafted Dafnis, non-grafted Isabella, self-grafted Dafnis, self grafting Isabella, Isabella grafted on wild eggplant rootstock (*S. torvum*), and Dafnis grafted on wild eggplant rootstock. The plants were exposed to drought for 54 days. At the end of experiment growth and physiological parmeters including leaf specific, plant height dry weight of shoot as well as photosynthesis parameters, RWC and plant nutrients were measured. The amount of leaf proline was measured according to Paquin and Lichasur methodusing a spectrophotometer at a wavelength of 515 nm. The phenolic compounds of the leaves were measured at a wavelength of 725 nm using a spectrophotometer (Isfendiyaroglu and Zeker, 2002). Also, the membrane stability index (ion leakage percentage) was measured according to Lutts *et al*.'s method (Lutts *et al*., 1996).

Results and Discussion

The results showed that with increasing irrigation period decreased the most of vegetative parameters, photosynthesis pigments, and mineral nutrients, so that, the highest value was showed at the 3-day irrigation period

1, 2 and 4- M.Sc. Student and Professors, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Vali-e-Asr University of Rafsanjan, respectively.
(*- Corresponding Author: h.karimi214@vru.ac.ir)
3- Associate Professor, Department of Genetics and Plant Production, Faculty of Agriculture, Vali-e-Asr University of Rafsanjan
DOI: 10.22067/jhs.2022.76513.1170

and the lowest value was at the 9-day irrigation period. Shoot weight decrese is probably due to morphological changes in plant roots, which is a plant response to drought stress. The results also showed that the interaction of irrigation period and grafted combination on some vegetative and ecophysiological parameters was significant. The lowest dry weight of shoot was observed at 9-day of irrigation period in plants of Dafnis grafted on torvum rootstock., Tthe highest dry weight root volume, leaf potassium and phosphorous concentration were at the 3-day irrigation period in self-grafted Dafnis plants.The results also showed that the amount of phenolic compounds in plants of Isabella grafted on torvum rootstock was the highest in 9 days irrigation period which may be due to the rootstock effect on the synthesis of these compounds in the scion. According to the results, the concentration of leaf magnesium in non-grafted plants increased with the increase of the irrigation cycle from 3 days to 9 days, althougth no significant difference was observed between self-grafted and non-grafted plants. In the 9-day irrigation period, the highest concentration of leaf magnesium was observed to non-grafted Daphnis plants, which was significantly different from other grafting combinations compounds except Daphnis self-grafted plants.

Conclusion

The results of the present study showed that drought stress had the greatest effect on dry matter, and the amount of photosynthetic indices and pigments in tomato plants. Based on the results of the present study, it was found that the most of the reduce vegetative and physiological parameters was observed in Daphnis cultivar grafted on the thorum rootstock, were significantly reduced compared to self-grafted or non-grafted plants, which it was due to the dwarfing effects of this rootstock or grafting incompatibility. According to the results of the present study, it can be postulated that in drought stress Isabella cultivars grafted on the wild eggplant rootstock had more growh than other combination grafting. Hence it proposed more studies in this case.

Keywords: Dafnis, Grafted combination, Isabella, Irrigation period, *Torvum*

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

مقاله پژوهشی
جلد ۳۷، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۲، ص. ۴۹۵-۴۸۱

تاثیر پایه بادنجان وحشی (*Solanum torvum*) بر میزان تحمل به تنش خشکی گوجه‌فرنگی بر اساس شاخص‌های رشدی و فیزیولوژیکی

دامون اخگر[1]- حمید رضا کریمی[2*]- سید رسول صحافی[3]- سید حسین میردهقان[4]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۳/۲۸
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۹/۲۳
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۹/۲۳

چکیده

به‌منظور بررسی تاثیر پایه بادنجان وحشی بر میزان تحمل به خشکی گوجه‌فرنگی رقم 'دافنیس' و 'ایزابلا'، پژوهشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. فاکتورها شامل دور آبیاری در سطح ۳ (شاهد)، ۶ و ۹ روز یکبار و فاکتور ترکیب پیوندی در شش سطح شامل غیرپیوندی 'دافنیس' و 'ایزابلا'، خودپیوندی 'دافنیس'، خودپیوندی 'ایزابلا'، پیوندک 'دافنیس' بر روی پایه بادنجان وحشی (تورووم)، پیوندک 'ایزابلا' بر روی پایه بادنجان وحشی (تورووم) بودند. در پایان تنش خشکی، پارامترهای رویشی شامل ارتفاع گیاه، وزن خشک ریشه، وزن خشک اندام هوایی و همچنین پارامترهای فتوسنتزی، روابط آبی و عناصر غذایی گیاه اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد که با افزایش دور آبیاری اکثر پارامترهای رویشی و غلظت رنگدانه‌های فتوسنتزی و عناصر غذایی کاهش یافت، به‌طوری که بالاترین مقدار با دور آبیاری ۳ روز و کمترین مقدار در دور آبیاری ۹ روز مشاهده شد همچنین برهمکنش دور آبیاری و ترکیب پیوندی بر برخی پارامترهای رویشی و اکوفیزیولوژیکی معنی‌دار شد بطوریکه کمترین میزان وزن خشک اندام‌هوایی در دور آبیاری ۹ روز در گیاهان پیوندی 'دافنیس' بر روی پایه 'تورووم' مشاهده شد. بر اساس نتایج پژوهش حاضر می‌توان بیان کرد ترکیب پیوندی 'ایزابلا' بر روی پایه تورووم مقاومت بالاتری به تنش خشکی داشت.

واژه‌های کلیدی: ایزابلا، ترکیب پیوندی، تورووم، دافنیس، دور آبیاری

مقدمه

گوجه‌فرنگی با نام علمی .*Lycopersicon esculentum* Mill یک سبزی میوه‌ای از خانواده بادنجانیان که به‌علت داشتن انواع ویتامین‌ها، اسیدهای آلی مفید، لیکوپن ، قند و املاح، نقش مهمی در سلامت انسان ایفا می‌کند (Kashi *et al.*, 2008). گوجه فرنگی یکی از سبزی‌های زیر مجموعه محصولات باغبانی است که نیاز آبی بالایی دارد. تنش خشکی در گوجه فرنگی باعث کاهش کیفیت میوه، کاهش عملکرد، ریزش برگ‌ها، پوسیدگی گلگاه، پژمردگی سریع بوته و کوتاه شدن دوره زندگی آن می‌شود(Kirnak *et al.*, 2001). همچنین گزارش شده است که خشکی موجب توقف فرآیندهای تقسیم و رشد سلولی، بسته شدن روزنه‌ها و کاهش جریان دی‌اکسیدکربن به سلول‌های مزوفیل برگ، کاهش جذب نیتروژن و فعالیت آنزیم‌های تثبیت‌کننده نیتروژن می‌شود. راهکارهای متعددی برای فائق آمدن بر تنش خشکی پیشنهاد شده است که می توان به استفاده از ژنوتیپ‌های مقاوم و سازگار به خشکی، مهندسی ژنتیک برای شناسایی ژن‌های مقاوم به خشکی و انتقال آن به گیاهان حساس و همچنین استفاده از پایه‌های مقاوم اشاره کرد (Asseng and Herwaarden, 2003). که در این بین ساده ترین و کاربردی

۱، ۲ و ۴- به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و استادان گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان
(*- نویسنده مسئول: Email: h.karimi214@vru.ac.ir)
۳- دانشیار گروه ژنتیک و تولید گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان

DOI: 10.22067/jhs.2022.76513.1170

ترین روش استفاده از ارقام و پایه‌های مقاوم می‌باشد. در پژوهش‌های متعددی از پایه‌های *S. sisymbriifolium*، *S. torvum*، *S. intergrifolium* و *S. toxicurium* به عنوان پایه‌های مورد استفاده برای گوجه‌فرنگی نام برده شده است (Goto *et al.*, 2013). در پژوهشی گوجه‌فرنگی رقم ردتاپ[1] بر روی دو پایه بادنجان (بادنجان دلمه‌ای و بادنجان قلمی) پیوند شدند، و گزارش شد که گیاهان پیوندی نسبت به شاهد از رشد رویشی بهتری برخوردار بودند و استفاده از پایه بادنجان دلمه‌ای نتایج مطلوب‌تری در برداشت (Shahabi and Shirzadi, 2013). در پژوهش دیگری حسنی و سیدی (Hassani and Seidi, 2013) تأثیر پایه و رژیم های مختلف آبیاری را بر کیفیت و عملکرد گوجه‌فرنگی رقم ارلی اورتابا مورد بررسی قرار دادند و گزارش کردند که تکنیک پیوند در شرایط تنش کم آبی سبب افزایش عملکرد، افزایش طول و قطر میوه، افزایش کلروفیل a، کلروفیل b و کل شد. تسریع در گلدهی و میوه دهی، کاهش محتوای پرولین، کاهش پوسیدگی گلگاه از دیگر نتایج بدست آمده از این بررسی بود.

پایه بادنجان وحشی یا تورووم[2] بومی مناطق گرمسیری و استوایی است (Colla *et al.*, 2010 a, b) که مقاومت بالایی به پاتوژن‌های خاکزی مثل ورتیسیلیوم و تنش‌های غرقابی و خشکی دارد. گزارش شده است که پایه تورووم در شرایط تنش خشکی باعث تأخیر در پژمردگی ناشی از تنش خشکی در اندام هوایی گوجه‌فرنگی ارقام سلبریتی و ۳۲۱۲ شد (Petran and Hoover, 2014). گوجه فرنگی یکی از محصولات باغبانی با نیاز آبی می باشد به‌طوری‌که کمیت و کیفیت آن تحت تاثیر دور آبیاری قرار می گیرد. از آنجایکه کشور ایران جزء مناطق خشک و نیمه خشک جهان محسوب می‌شود و محدودیت منابع آبی یکی از عوامل محدود کننده تولید محصول می‌باشد (Ainigar Sadafi *et al.*, 2015) مدیریت آب و استفاده از تکنیک های باغبانی مثل پیوند در راستای کاهش مصرف آب دارای اهمیت بالایی می‌باشد. پایه تورووم یکی از پایه‌های مورد پژوهش در کشورهای دیگر در این راستا می باشد اما تاکنون بررسی جامعی در این خصوص در ایران صورت نگرفته است لذا با توجه به موارد عنوان شده پژوهش حاضر با هدف تأثیر پایه بادنجان وحشی بر مقاومت به خشکی دو رقم گوجه‌فرنگی 'دافنیس' و 'ایزابلا' به اجرا در آمد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در پاییز سال ۱۳۹۸ در گلخانه دانشگاه ولی‌عصر (عج) رفسنجان بصورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار به اجرا در آمد. عامل‌ها شامل دور آبیاری (عامل اصلی) در سه سطح ۳ (شاهد)، ۶ و ۹ روز یکبار و ترکیب پیوندی (عامل فرعی) در ۶ سطح شامل ۱) غیر پیوندی 'دافنیس'، ۲) غیر پیوندی 'ایزابلا'، ۳) پیوندک 'دافنیس' × پایه 'دافنیس' (خود پیوندی)، ۴) پیوندک دافنیس × پایه بادنجان وحشی (تورووم)، ۵) پیوندک ایزابلا × پایه 'ایزابلا' (خود پیوندی)، ۶) پیوندک 'ایزابلا' × پایه بادنجان وحشی(تورووم) بود. در طول آزمایش متوسط دمای روزانه و شبانه گلخانه به‌ترتیب ۲۵ و ۱۶ درجه سلسیوس با رطوبت نسبی ۶۵ درصد یادداشت برداری شد.

تهیه پایه و پیوندک: بذرهای گیاه مادری تورووم در شرایط کشت بافت بر روی محیط موراشیکی و اسکوک) جوانه زنی شدند و بعد از انتقال به گلدان و رشد کافی (۶-۵ برگی) بوته‌های مادری، عمل سربرداری به‌منظور تولید قلمه صورت پذیرفت. بعد از رشد کافی شاخه‌ها، قلمه‌های علفی به طول ۱۵ سانتی‌متر با دو برگ تهیه شدند و ته قلمه‌ها با اکسین به غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر به مدت یک دقیقه تیمار شدند و در بستر کشت حاوی پرلایت زیر سیستم مه‌پاش ریشه دار شدند. سپس قلمه‌های ریشه دار شده به گلدان‌های ۴ لیتری حاوی مخلوط ماسه، پرلایت و کوکوپیت به نسبت ۱:۱:۲ انتقال و تا زمان انجام پیوند با محلول هوگلند تغذیه شدند. همچنین بذور گوجه‌فرنگی رقم 'دافنیس' و 'ایزابلا' تهیه شده از شرکت پاکان بذر جهت تولید پایه و پیوندک در سینی‌های کشت، کشت شدند و در مرحله دو برگی به گلدان‌های حاوی مخلوط فوق انتقال داده شدند.

انجام پیوند و مراقبت‌های لازم: عملیات پیوند پس از استقرار کامل و مرحله ۴ برگی پایه‌ها صورت پذیرفت. پیوند از نوع اسکنه و بصورت خودپیوندی و دگرپیوندی روی پایه تورووم و دو رقم گوجه‌فرنگی 'دافنیس' و 'ایزابلا' انجام شد. جهت تسریع در گیرایی پیوند، گیاهان پیوندی به محیطی با ۵۰ درصد روشنایی و رطوبت نسبی ۹۰-۸۰ درصد انتقال داده شدند و پس از گیرایی پیوند که بین ۱۰ تا ۱۵ روز به‌طول انجامید، سازگارسازی گیاهان با محیط گلخانه آغاز شد.

اعمال تیمار خشکی: اعمال تنش خشکی ۳۰ روز بعد از پیوند صورت پذیرفت به این‌صورت که بوته‌ها بسته به نوع تیمار با دور آبیاری ۳ (شاهد)، ۶ و ۹ روز به میزان ۳۵۰ میلی‌لیتر برای هر گلدان آبیاری شدند. گیاهان به مدت ۵۴ روز تحت تیمار خشکی قرار گرفتند و بعد از آن پارامترهای زیر اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری پارامترها

پارامترهای رویشی: پارامترهای رویشی اندازه‌گیری شده در این آزمایش شامل سطح ویژه برگ، ارتفاع گیاه، وزن خشک ریشه و اندام هوایی بودند. سطح ویژه برگ از نسبت سطح برگ بر وزن خشک بدست آمد و برای اندازه گیری سطح برگ از دستگاه سنجش سطح

1- Redtop
2- *Solanum torvum*

برگ (مدل IP-330-81D100J5AK ساخت کشور ایران، شرکت رایان اندیش آوات) استفاده شد و سطح برگ بر حسب سانتی‌مترمربع گزارش شد برای اندازه‌گیری وزن خشک ریشه و اندام هوایی نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و بعد وزن شدند.

پارامترهای فیزیولوژیکی: پارامترهای فیزیولوژیکی مورد اندازه‌گیری شامل پارامترهای فتوسنتزی و پارامترهای مربوط به روابط آبی گیاه بود. سنجش میزان کلروفیل کل برگ براساس روش آرنون (Arnon, 1949) با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (UV/VIS , T80 PG Instruments, UK) در طول موج‌های ۶۴۵، ۶۶۳ و ۴۷۰ نانومتر قرائت شد. محتوای نسبی آب برگ[1] (RWC) از روش وریچ و همکاران (Waraich *et al.*, 2011) محاسبه شد.

تنظیم کننده‌های اسمزی و شاخص پایداری غشاء: میزان پرولین بر اساس روش پاکویین و لیچاسور (Paquin and Lechasseur, 1979) و میزان جذب با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. مقدار ترکیبات فنلی بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه شد (Isfendiyaroglu and Zeker, 2002) و توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۲۵ نانومتر قرائت گردید. همچنین شاخص پایداری غشاء (در صد نشت یونی) بر اساس روش لوتس و همکاران (Lutts *et al.*, 1996) محاسبه شد.

غلظت عناصر غذایی برگ: عناصر غذایی اندازه‌گیری شده در این آزمایش شامل پتاسیم به روش جذب اتمی (Ghazanshahi, 2006) با دستگاه شعله سنج[2] (PEP7, Jenwyay, Germany)، کلسیم و منیزیم به روش تیتراسیون (Estefan *et al.*, 2013) و فسفر به روش گوپتا (Gupta *et al.*, 1993) و میزان جذب با دستگاه اسپکتروفتومتر (GBC avant ساخت کشور ایتالیا) در طول موج ۴۷۰ نانومتر قرائت شد.

تجزیه آماری: تجزیه واریانس و مقایسه میانگین داده‌های حاصل از این آزمایش با استفاده از نرم افزار آماری SAS (Version 9.4) صورت پذیرفت. برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون چنددامنه‌ای دانکن[3] در سطح احتمال ۵ در صد استفاده شد، و همچنین نمودارها با نرم‌افزار Excel 2010 ترسیم شدند.

نتایج و بحث

ارتفاع گیاه

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر دور آبیاری و ترکیب پیوندی بر ارتفاع بوته در سطح یک درصد ($p \leq ۰/۰۱$) معنی‌دار شد. ولی برهمکنش بین دور آبیاری و ترکیب پیوندی بر ارتفاع بوته تأثیر معنی‌داری نداشت (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که با افزایش دور آبیاری ارتفاع بوته کاهش یافت (شکل ۳-A). در بین ترکیبات پیوندی بیشترین ارتفاع بوته مربوط به گوجه‌فرنگی غیرپیوندی ایزابلا بود که با خودپیوندی ایزابلا اختلاف معنی‌داری نداشت. کمترین میانگین ارتفاع بوته در ترکیب پیوندی توروم × دافنیس مشاهده شد (شکل ۴-A). تنش خشکی در مراحل ابتدایی رشد طولی و عرضی گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. رشد سلول حساس‌ترین فرایند گیاه تحت تأثیر تنش خشکی است زیرا فشار آماس به‌عنوان نیروی فیزیولوژیکی برای توسعه سلول است (Asseng and van Herwaarden, 2003). همچنین این امکان وجود دارد که با پیوند زدن حرکت اکسین بطرف پایین کاهش یافته و سنتز سایتوکنین در ریشه کمتر شده در نتیجه رشد هوایی کاهش یافته و کاهش ارتفاع ایجاد می‌شود (Gregorian, 2002). گزارش شده است که رقم‌های گوجه‌فرنگی پیوند شده سروو[4]، کارینا[5] و تیموتی[6] بر روی پایه بادنجان وحشی دارای ارتفاع کوتاه‌تری نسبت به شاهد بودند که در راستای پژوهش فوق می‌باشد (Latifah *et al.*, 2021).

سطح ویژه برگ

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که فقط اثر ترکیب پیوندی بر سطح ویژه برگ در سطح احتمال پنج درصد ($p \leq ۰/۰۵$) معنی‌دار بود و اثر دور آبیاری و اثر متقابل دورآبیاری و ترکیب پیوندی معنی‌دار نشد (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد بیشترین سطح ویژه برگ در ترکیب پیوندی توروم × دافنیس مشاهده شد و بین سایر ترکیبات پیوندی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۴-B). تنش خشکی بر سطح ویژه برگ اثری نداشت. سطح ویژه برگ منعکس کننده ضخامت برگ است و ضخامت برگ انعکاس مقدار اندامک‌های فتوسنتزی و میزان فتوسنتز است. یکی از عوامل تاثیرگذار بر سطح ویژه برگ در گیاهان پیوندی، میزان هورمون سایتوکینین سنتز شده در ریشه و میزان انتقال آن به اندام‌هوایی می‌باشد که از طریق تاثیر بر تقسیم سلولی یا بهبود فتوسنتز برگ از طریق حفظ کلروفیل برگ بر میزان رشد برگ تاثیر گذار است از آنجایی که محل سنتز سیتوکنین ریشه می‌باشد این احتمال وجود دارد که پایه از طریق تأثیر بر سنتز این هورمون بر سطح ویژه برگ تأثیرگذار بوده است (Germana, 1997).

1- Relative Water Content
2- Flamephotomete
3- Duncan
4- Cervo
5- Karina
6- Timoty

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر دور آبیاری و ترکیب پیوندی بر صفات رویشی گوجه‌فرنگی

Table 1- ANOVA for the effect of irrigation period and grafting combination on the growth parameters of tomato plants

منابع تغییرات Sources of variation	درجه آزادی Degrees of freedom	میانگین مربعات Mean squares			
		ارتفاع گیاه Plant height	سطح ویژه برگ Specific leaf area	وزن خشک اندام هوایی Shoot dry weight	وزن خشک ریشه Root dry weight
دورآبیاری Irrigation period (I)	2	8534.178**	10140.239 ns	8555.688 **	6.338 **
ترکیب پیوندی Graftting combination (G)	5	1391.155**	10927.151 *	148.01 **	0.666 *
G ×I	10	118.604 ns	3200.586 ns	58.451 *	0.437 *
خطا Error	54	71.063	3840.371	27.623	0.216
ضریب تغییرات CV (%)	–	11.98	17.37	14.05	29.85

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

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

در پژوهشی رشد و عملکرد سه رقم گوجه‌فرنگی بر روی سه پایه بادنجان محلی منطقه اندونزی بنام‌های ای‌جی۲۰۳[1]، گلاتیک[2] و بادنجان وحشی[3] را در ۴ مرحله رشدی ۴، ۶، ۸ و ۱۰ هفتگی بررسی و گزارش شد در ۴ هفتگی پیوندک تیموتی بر روی پایه بادنجان وحشی تورووم بالاترین سطح ویژه برگ را نسبت به غیر پیوندی 'تیموتی' (شاهد) داشت (Latifah *et al*., 2021).

وزن خشک اندام هوایی

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد اثر اصلی دور آبیاری در سطح احتمال یک در صد ($p≤۰/۰۱$) و اثر اصلی ترکیب پیوندی و برهمکنش دور آبیاری و ترکیب پیوندی در سطح احتمال پنج در صد ($p≤۰/۰۵$) بر وزن خشک اندام هوایی معنی‌دار شدند (جدول ۱). بر اساس مقایسه‌ی میانگین‌های اثرات متقابل وزن خشک اندام هوایی، با افزایش دور آبیاری از ۳ به ۶ روز، وزن خشک در تمام ترکیبات پیوندی به جز ترکیب پیوندی 'دافنیس' بر روی تورووم کاهش معنی‌داری نسبت به شاهد داشت. با افزایش دور آبیاری از ۶ به ۹ روز تفاوت معنی‌داری بین ترکیبات پیوندی از لحاظ وزن خشک ریشه مشاهده نشد (شکل ۱-A). کاهش وزن خشک اندام هوایی احتمالاً به‌دلیل تغییرات مورفولوژیک ریشه گیاهان باشد که در واقع نوعی پاسخ گیاه به تنش خشکی است (Molavi *et al*., 2012). با افزایش فشار اسمزی ناشی از تنش، رشد ریشه و اندام هوایی گیاه کاهش می‌یابد در نتیجه وزن خشک اندام‌هوایی کاهش می‌یابد. هورمون‌های گیاهی مهمترین عامل‌های درونی در گیاه هستند که همه جنبه‌های رشد و نمو رویشی و زایشی گیاه را تنظیم می‌کنند، بنابراین باور بر این است که نقش مهمی در ارتباط ریشه با اندام‌های هوایی ایفا می‌کنند، گیاهانی با سیستم ریشه‌ای ضعیف، سایتوکینین کمتری را به درون آوندچوبی رها می‌کنند و در نتیجه عملکرد را به‌دلیل القاء رشد رویشی کمتر به اندام‌های هوایی، کاهش می‌دهند. در پژوهشی تاثیر و عملکرد پایه فلفل هیبرید رقم 'نیبر'[4] بر پیوندک فلفل دلمه‌ای رقم 'مسترال‌اف۱'[5] در دو سطح آبیاری ۱۰۰ درصد نیاز آبی (شاهد) و ۵۰ درصد نیاز آبی (کم آبیاری)، بررسی شد و گزارش شد که فقط اثر دور آبیاری بر وزن خشک اندام هوایی تاثیر معنی‌دار داشت ولی بین گیاهان غیرپیوندی و پیوندی اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (Gisbert-Mullor., 2020).

وزن خشک ریشه

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد اثر اصلی دور آبیاری در سطح احتمال یک در صد ($p≤۰/۰۱$) و اثر اصلی ترکیب پیوندی و برهمکنش دور آبیاری و ترکیب پیوندی در سطح احتمال پنج در صد ($p≤۰/۰۵$) بر وزن خشک ریشه معنی‌دار شدند (جدول ۱). مقایسه‌ی

1- EG203
2- Gelatik
3- *Solanum torvum*
4 NIBER
5 Maestral F1

میانگین‌های اثرات متقابل نشان داد که با افزایش دور آبیاری از ۳ به ۶ روز وزن خشک ریشه تمام ترکیبات پیوندی به جز ترکیب پیوندی 'دافنیس' بر روی توروووم کاهش معنی‌داری نسبت به شاهد داشت در دور آبیاری ۳ روز (شاهد) ترکیب پیوندی 'دافنیس' بر روی پایه توروووم همراه با کاهش وزن ریشه بود این در حالی است که بین ترکیبات پیوندی ایزابلا تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۱-B). وزن خشک ریشه در دور آبیاری ۶ روز در تمام ترکیبات بجز ترکیب دگر پیوندی دافنیس کاهش داشت. با افزایش دور آبیاری از ۶ به ۹ روز وزن خشک ریشه تغییری نداشت که ممکن است به‌دلیل کاهش عکس‌العمل گیاه به شرایط تنش باشد (Ainigar Sadafi *et al.*, 2015). در پژوهشی تأثیر پایه‌های بیوفورت و شید[1] بر مقاومت گوجه‌فرنگی به تنش آبی بررسی و گزارش شد که با افزایش دور آبیاری وزن خشک ریشه کاهش یافت (Suchoff *et al.*, 2018). در پژوهش حاضر وزن خشک ریشه در ترکیب پیوندی 'دافنیس' بر روی پایه توروووم تحت تأثیر تنش واقع نشد که نشان دهنده عدم واکنش‌پذیری ترکیب پیوندی فوق به تنش خشکی است. از آنجایی که رشد گیاه بستگی به تأمین کربوهیدرات‌های مورد لزوم از شاخه‌ها و قسمت هوایی است لذا عوامل محدود کننده فتوسنتز از قبیل نور و آب علاوه بر کاهش عملکرد گیاه، رشد ریشه را نیز تقلیل می‌دهند (Keshavarznia *et al.*, 2014). لذا دلیل اصلی اختلاف در وزن خشک ریشه در ترکیب‌های پیوندی مختلف در تیمارهای آبیاری را می‌توان به تنش آبی مرتبط دانست.

کلروفیل کل

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات اصلی دور آبیاری و ترکیب پیوندی در سطح احتمال یک در صد ($p\leq ۰/۰۱$) و اثرات متقابل دور آبیاری و ترکیب پیوندی در سطح پنج درصد ($p\leq ۰/۵$) بر صفت کلروفیل کل معنی‌دار شدند (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین‌های اثرات متقابل نشان داد که با افزایش دور آبیاری از ۳ به ۶ روز میزان کلروفیل کل در تمام ترکیب‌های پیوندی به جز دگر پیوندی 'دافنیس' نسبت به شاهد کاهش داشت. در دور آبیاری ۹ روز میزان کلروفیل کل در گیاهان غیرپیوندی نسبت به دور آبیاری ۶ روز افزایش معنی‌داری داشت بطوری‌که بالاترین میزان کلروفیل کل در گیاهان دگر پیوندی مشاهده شد (شکل ۱-C). کاهش کلروفیل برگی در شرایط تنش می‌تواند به خاطر کاهش انتقال ازت به سمت بافت‌ها و تغییر در فعالیت آنزیم هایی مانند نیترات‌ردوکتاز باشد. علاوه بر این کاهش غلظت کلروفیل در شرایط تنش خشکی به فعالیت آنزیم‌های کلروفیلاز، پراکسیداز و همچنین تغییر در متابولیسم پرولین و تغییر در ساختار تیلاکویید و کلروپلاست نسبت داده‌اند (Ruiz *et al.*, 1997).

1- Shield

گزارش شده است که تنش خشکی سبب کاهش کلروفیل a و b در دو رقم گوجه‌فرنگی ارلی و ارلی اربانا شد (Shahbazi *et al.*, 2014).

محتوای نسبی آب برگ

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که محتوای نسبی آب برگ تحت تأثیر اثر اصلی دور آبیاری در سطح احتمال یک در صد ($p\leq ۰/۰۱$) و اثر اصلی ترکیب پیوندی و اثرات متقابل در سطح احتمال پنج در صد ($p\leq ۰/۰۱$) معنی‌دار شدند (جدول ۲). مقایسه میانگین‌های اثرات متقابل نشان داد که با افزایش دور آبیاری از ۳ به ۶ روز محتوای نسبی آب برگ در گیاهان خودپیوندی کاهش پیدا کرد. افزایش دور آبیاری به ۹ روز سبب کاهش محتوای نسبی آب برگ گیاهان دگرپیوندی 'دافنیس' شد در صورتی‌که بین گیاهان دگر پیوندی ایزابلا با شاهد تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۱-D). این مسئله اثرات بیشتر پایه توروووم بر روی رقم ایزابلا و اثرات متقابل پایه و پیوندک را نشان می‌دهد. محققین نیز یکی از مهم‌ترین عوامل حفظ بقاء گیاهان در شرایط تنش را قدرت بالای گیاه در حفظ آب سلولی می‌دانند (Salisbury and Ross, 1991). در شرایط تنش خشکی از سوی ریشه سیگنال‌های شیمیایی (اسید آبسزیک) به اندام هوایی ارسال می‌شود و روزنه‌ها بسته و تعرق کاهش می‌یابد در نتیجه آب جذب نمی‌شود و بدنبال آن محتوای نسبی آب برگ کاهش می‌یابد (Wang, 2011). محمودنیا و همکاران (Mahmoudnia *et al.*, 2012) در پژوهشی پاسخ‌های فیزیولوژیکی ۴ گونه گوجه‌فرنگی زراعی[2]، پنلی[3]، چیلنس[4] و هرسوتوم[5] در دو سطح آبیاری (ظرفیت زراعی و ۴۰ درصد ظرفیت زراعی) و ۴ دوره زمانی (قبل از تنش، ۱۰ روز بعد از تنش، ۲۰ روز بعد از تنش و بازیابی) بررسی کردند و گزارش دادند که بیشترین کاهش محتوای نسبی آب برگ در ارقام زراعی تحت کشت و کمترین در گونه‌های وحشی مشاهده شد. بنابراین بالاتر بودن محتوای نسبی آب برگ در ترکیب پیوندی ایزابلا بر روی پایه توروووم را می‌توان به راندمان جذب آب بهتر پایه توروووم نسبت داد که با پژوهش حاضر مطابقت داد.

پرولین

طبق نتایج جدول تجزیه واریانس اثر اصلی ترکیب پیوندی و اثر متقابل دور آبیاری و ترکیب پیوندی در سطح احتمال یک درصد ($p\leq ۰/۰۱$) بر صفت میزان ترکیبات فنلی برگ معنی‌دار شدند و اثر مستقل دور آبیاری بر میزان ترکیبات فنلی معنی‌دار نشد (جدول ۲). با

2- *Lycopersicon esculentum*
3- *L. pennellii*
4- *L. chilense*
5- *L. hirsutum*

افزایش دور آبیاری میزان پرولین نیز افزایش یافته و در شرایط تنش بیشترین میزان پرولین در گیاهان دگرپیوندی ایزابلا مشاهده شد (شکل ۲-A). یکی از مکانیسم‌های کارآمد که به هنگام مواجه شدن با خشکی برای حفظ تورژسانس و آماس سلولی در گیاهان به وجود می‌آید، تنظیم اسمزی است. تنظیم اسمزی در اثر انباشت ترکیبات آلی و معدنی در بافت‌ها انجام می‌شود (Patakas *et al*., 2002). پرولین اسیدآمینه ذخیره شده در سیتوپلاسم بوده و احتمالاً در حفاظت از ساختمان ماکرومولکول‌های درون سلول در طی تنش خشکی نقش مؤثری دارد. تجمع پرولین علاوه بر ایجاد تعادل اسمزی، عامل حفاظت کننده غشاها، پروتئین‌ها و ساختارهای درون سلولی و حذف کننده رادیکال‌های آزاد است (Farooq *et al*., 2009) یکی از دلایل افزایش پرولین در پژوهش حاضر، کاهش تبدیل آن به پروتئین یا کاهش تخریب آن توسط آنزیم پرولین دهیدروژناز است (Delauney and Verma, 2002; Alc-ázar *et al*., 2010).

نشت یونی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر اصلی دور آبیاری و اثر متقابل ترکیب پیوندی و دور آبیاری بر صفت نشت یونی در سطح احتمال یک در صد ($p\leq$۰/۰۱) معنی‌دار شد اما اثر مستقل ترکیب پیوندی بر صفت مذکور معنی‌دار نشد (جدول ۲). مقایسه‌ی میانگین‌ها نشان داد که با افزایش دور آبیاری از ۳ به ۶ روز میزان نشت یونی در تمام ترکیبات پیوندی افزایش یافت اگرچه در این دور از آبیاری بین ترکیبات پیوندی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۲-C). اگرچه مقدار نشت یونی با افزایش دور آبیاری از ۶ به ۹ روز افزایش پیدا کرد اما در این دور آبیاری ترکیب پیوندی ’دافنیس‘ × توروو کمترین نشت یونی را داشت. در تنش‌های شدید قسمت‌هایی از فسفولیپیدهای غشاء تغییر حالت داده و ساختار غشاء به ساختار منفذدار تبدیل می‌شود و نشت یونی رخ می‌دهد و باعث افزایش پراکسیداسیون چربی‌ها و متعاقب آن کاهش شاخص پایداری غشاء سلول در گیاهان مختلف می‌شود. میزان نشت یونی سلول در شرایط تنش خشکی نشان دهنده میزان آسیب وارد شده به غشای سلول است و به‌عنوان شاخصی برای تحمل به خشکی بیان می‌شود (Waraich *et al*., 2011) در پژوهشی بادنجان رقم تیورم‌اف[1] تحت ۴ تیمار رژیم رطوبتی ۱۰۰ (کنترل)، ۸۰ ، ۶۰ و ۴۰ درصد ظرفیت گلدانی قرار داده شد، نتایج نشان داد که گیاهان در ۴۰ درصد رژیم رطوبتی بالاترین نشت یونی را داشتند (Kirnak *et al*., 2001) نتایج پژوهش حاضر در راستای نتایج فوق می باشد.

1- *Solanum melongena* L. ev., teorem F1

ترکیبات فنلی

طبق نتایج جدول تجزیه واریانس، اثر ترکیب پیوندی و اثر متقابل دور آبیاری و ترکیب پیوندی در سطح احتمال یک درصد ($p\leq$۰/۰۱) بر میزان ترکیبات فنلی برگ معنی‌دار شدند و اثر مستقل دور آبیاری بر میزان ترکیبات فنلی معنی‌دار نشد (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد میزان ترکیبات فنلی در ترکیب پیوندی توروو × ایزابلا در دور آبیاری ۹ روز بالاترین میزان بود (شکل ۲-B) که ممکن است به‌دلیل تأثیر پایه بر سنتز این ترکیبات در پیوندک باشد. تنش خشکی به‌علت تضعیف سیستم ایمنی ترکیبات فنلی را افزایش داده تا بتواند علاوه بر خاصیت آنتی اکسیداتی این ترکیبات، واکنش‌های دفاعی مناسبی را در برابر حمله میکروارگانیسم‌ها در پیش گیرد. به‌طور کلی، ارقام و ژنوتیپ‌هایی که میزان ترکیبات فنلی آن‌ها بیشتر است، اغلب به‌عنوان رقم و ژنوتیپ مقاوم به شرایط تنش خشکی معرفی می‌شوند (Salisbury and Ross, 1991).

منیزیم برگ

نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثرات اصلی دور آبیاری و ترکیب پیوندی و اثرات متقابل دور آبیاری و ترکیب پیوندی در سطح احتمال ($p\leq$۰/۰۱) بر غلظت منیزیم برگ معنی دار شد (جدول ۱). بنابر نتایج مقایسه‌ی میانگین‌ها میزان منیزیم برگ در گیاهان غیرپیوندی با افزایش دور آبیاری از ۳ روز به ۹ روز افزایش یافت. درصورتی‌که در این ارتباط بین گیاهان خود پیوندی و دگر پیوندی تفاوت معنی داری مشاهده نشد. در دور آبیاری ۹ روز، بیشترین غلظت منیزیم برگ مربوط به گیاهان غیر پیوندی دافنیس بود که با سایر ترکیبات به جز گیاهان خودپیوندی ’دافنیس‘ تفاوت معنی‌داری داشت (شکل ۲-D). بر اساس نتایج می‌توان بیان کرد که پیوند باعث کاهش میزان منیزیم برگ شده است. کاهش، افزایش و عدم تغییر در میزان منیزیم گیاه، تحت تنش خشکی، در برخی مطالعات گزارش شده است (Smolinski and Pestka, 2003). در پژوهشی ارقام کریمسون تاید[2] و کریسبی[3] هندوانه بر روی ۴ رقم کدو به‌نام‌های فرو[4]، آر اس۸۴۱[5]، آرژنتاریو[6] و ماسیز[7] پیوند شدند و گزارش شد که تمام ترکیب‌های پیوندی به جزء کریسبی بر روی پایه فرو، سبب افزایش منیزیم برگ شدند (Yetisir *et al*., 2013).

2- Crimson Tide
3- Crisby
4- Feroo
5- Rs841
6- Argentario
7- Macis

جدول ۲- تجزیه واریانس مربوط به اثر دور آبیاری و ترکیب پیوندی بر میزان کلروفیل کل، محتوای نسبی آب برگ، نشت یونی، پرولین و ترکیبات فنولی گیاه گوجه‌فرنگی

Table 2- ANOVA for the effect of irrigation period and grafting combination on the total chlorophyll, relative water content, Ion leakage, proline and phenolic compounds of tomato plants

منابع تغییرات Sources of variation	درجه آزادی Degrees of freedom	میانگین مربعات Means squares		
		کلروفیل کل Total chlorophyll	محتوای نسبی آب برگ Relative water content	نشت یونی Ion leakage
دورآبیاری Irrigation period (I)	2	4.151 **	555.844 **	1756.647**
ترکیب پیوندی graftting combination (G)	5	0.699 **	155.562 **	72.061 ns
G ×I	10	0.332 *	86.888 *	238.032**
خطا Error	54	0.157	42.310	86.067
ضریب تغییرات CV (%)	-	16.82	8.53	15.49

منابع تغییرات Sources of variation	درجه آزادی Degrees of freedom	پرولین Proline	ترکیبات فنلی Phenolic compounds
دورآبیاری Irrigation period (I)	2	1.905 **	0.000 ns
ترکیب پیوندی Grafting combination (G)	5	0.579 **	0.009 **
G ×I	10	0.323 **	0.004 **
خطا Error	54	0.094	0.001
ضریب تغییرات CV (%)	-	19.17	19.53

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

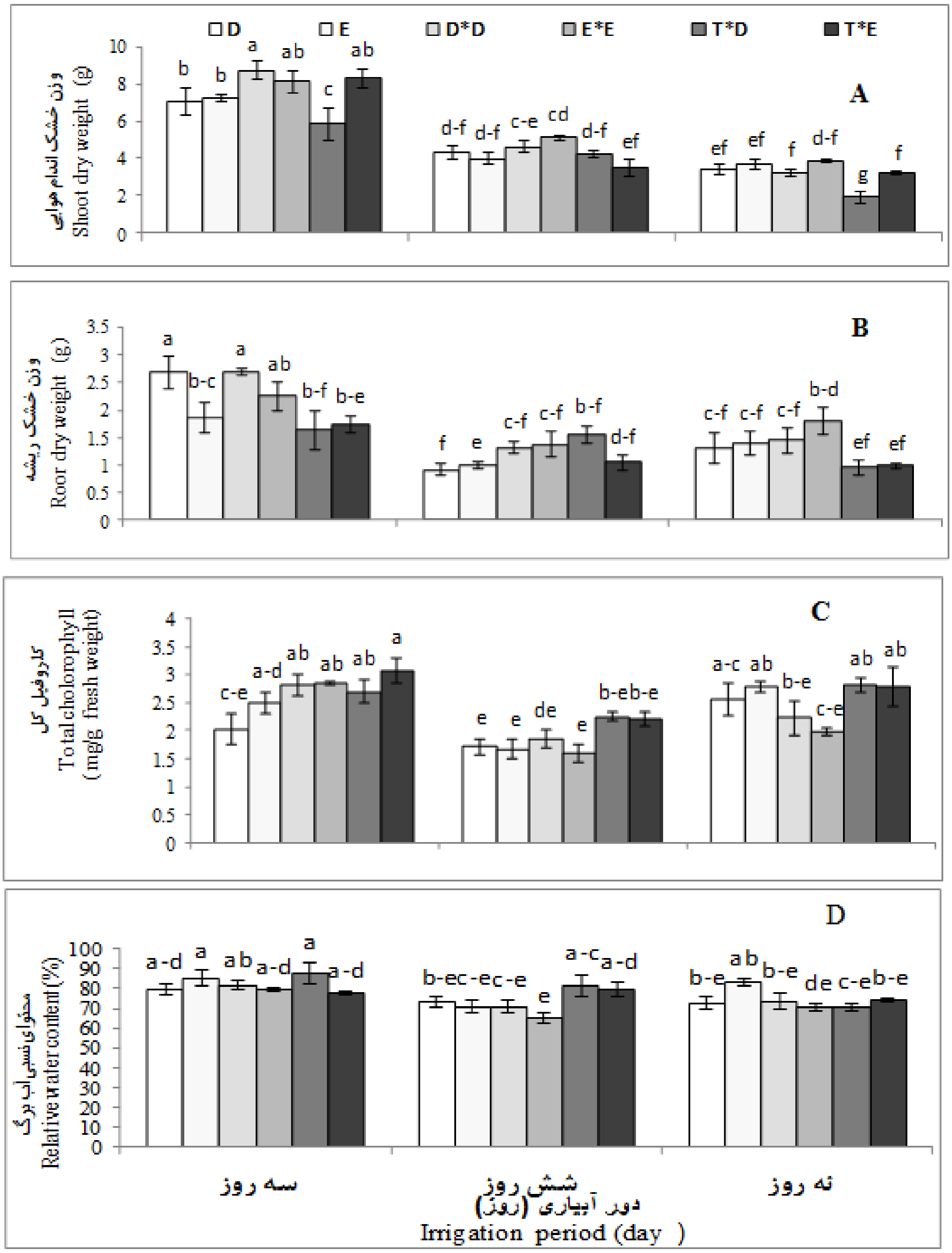
* and ** :significant at the 5% and 1% of probability levels and ns: no-significant, respectivety.

در پژوهشی ارلیک و همکاران (Urlic *et al.*, 2020) اثر تنش خشکی بر روی دو رقم گوجه‌فرنگی پیوندی بل[1] و کلارابلا[2] در گلخانه تجاری را با دو تیمار، آبیاری نیمی از ریشه‌ها و آبیاری کامل ریشه‌ها (با استفاده از سیستم آبیاری قطره‌ای) و ۶ ترکیب پیوندی شامل غیرپیوندی، خودپیوندی و دگرپیوندی (دو رقم بر روی پایه هیمن) بررسی کردند و گزارش کردند که در شرایط آبیاری نیمی از ریشه‌ها، میزان کلسیم و منیزیم برگ‌ها افزایش داشت که این نتایج با پژوهش حاضر در یک راستا نمی‌باشد.

1- Belle
2- Clarabella

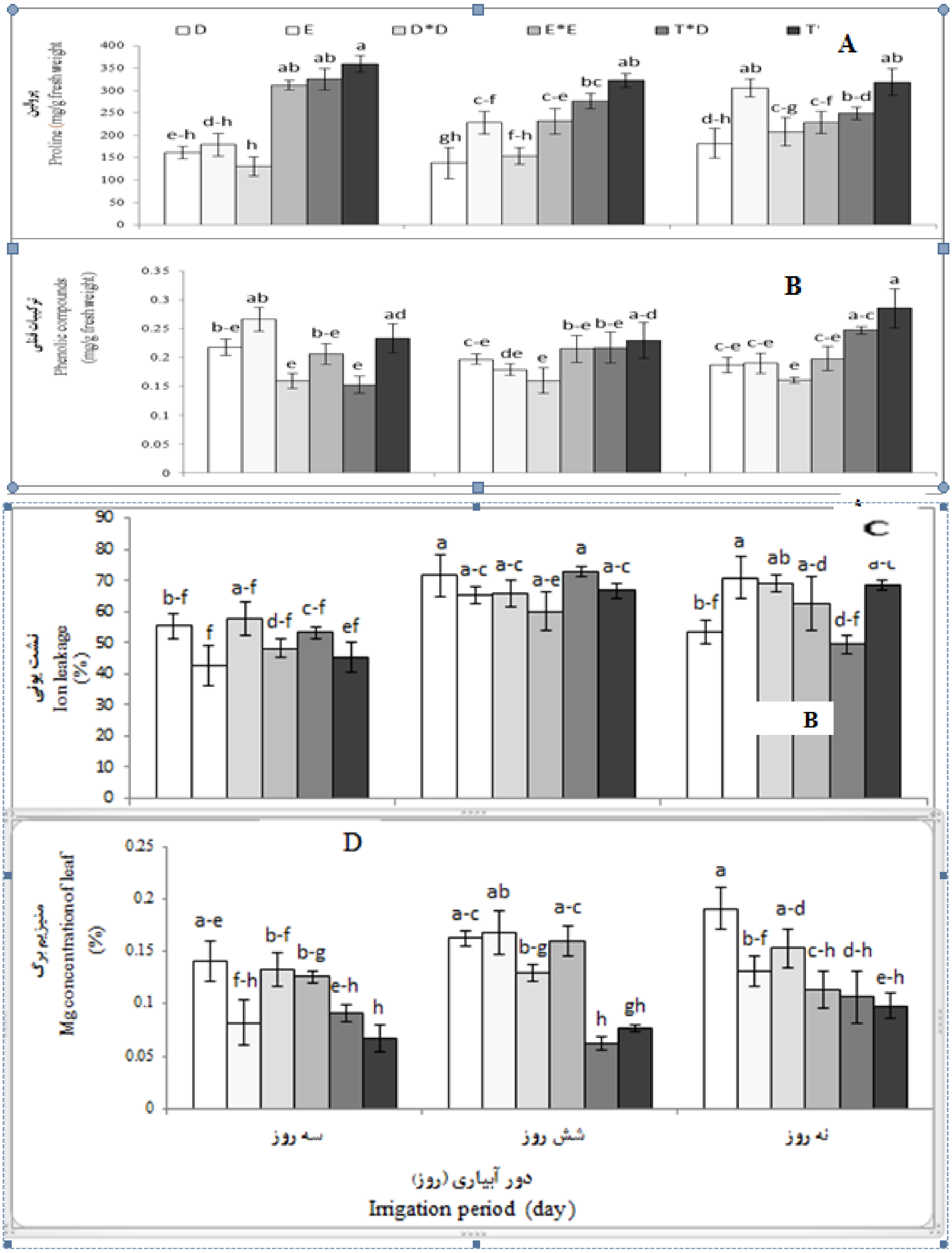
کلسیم برگ

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان داد که اثر اصلی دور آبیاری در سطح احتمال پنج درصد ($p\leq۰/۰۵$) و اثر اصلی ترکیب پیوندی در سطح احتمال یک درصد ($p\leq۰/۰۱$) بر غلظت کلسیم برگ معنی‌دار شدند. در دور آبیاری ۶ روز میزان کلسیم برگ نسبت به شاهد افزایش یافت (شکل ۳-B). مقایسه ترکیب‌هایی پیوندی نشان داد که بالاترین میزان کلسیم در گیاهان غیرپیوندی و خودپیوندی در هر دو رقم مشاهده شد این در حالی است که گیاهان دگرپیوندی دارای کلسیم کمتری بودند (شکل ۴-C). کلسیم عمدتا با جریان توده‌ای به سطح ریشه گیاه منتقل و جذب می‌شود. کمبود میزان رطوبت خاک باعث محدود شدن انتقال کلسیم به سطح ریشه شده و در نتیجه جذب آن کاهش می‌یابد.



شکل ۱- برهمکنش دور آبیاری × ترکیب پیوندی بر وزن خشک اندام هوایی (A)، وزن خشک ریشه (B)، کلروفیل کل (C) و محتوای نسبی آب برگ (D) در دو رقم گوجه‌فرنگی. D: 'دافنیس'، E: 'ایزابلا' و T: 'توروم'

Figure 1- Interaction effect of irrigation period ×graftting combination on shoot dry weight (A), root dry weight (B), total cholorophyll (C), and realative water content (D) of two tomato varieties: D: 'Daphnis', E: 'Ezabella', T: 'Torvum' (DMRT, *p≤0.05*)



شکل ۲- برهمکنش دور آبیاری × ترکیب پیوندی بر میزان پرولین (A)، ترکیبات فنلی (B)، نشت یونی (C) و منیزیم برگ (D) در دو رقم گوجه‌فرنگی. 'دافنیس'، E: 'ایزابلا' و T: 'توروووم'

Figure 2- Interaction effect of irrigation period ×graftting combination on proline (A), phenolic compound (B), Ion leakage (C), and Mg concentration of leaf (D). D: 'Daphnis', E: 'Ezabella', T: 'Torvum' (DMRT, *p* ≤*0.05*).

کاهش تبخیر و تعرق توسط گیاه در شرایط تنش خشکی نیز دلیل دیگری بر کاهش جذب و توزیع کلسیم در گیاه می‌باشد (Keshavarznia *et al*., 2014). بنابراین کاهش میزان کلسیم در پژوهش حاضر در گیاهان دگرپیوندی را می‌توان به کاهش سطح برگ پیوندک به دلیل اثرات پایه توروو نسبت داد.

پتاسیم برگ

طبق نتایج تجزیه واریانس، اثر اصلی ترکیب پیوندی در سطح احتمال یک در صد ($p\leq0.01$) و همچنین اثر مستقل دور آبیاری در سطح احتمال پنج درصد ($p\leq0.05$) بر غلظت پتاسیم برگ معنی‌دار شد (جدول ۳). با افزایش دور آبیاری از ۳ به ۶ روز، میزان پتاسیم برگ افزایش پیدا کرد ولی با افزایش دور آبیاری از ۶ روز به ۹ روز تغییری در میزان پتاسیم حاصل نشد (شکل C-۳).کمترین مقدار پتاسیم در ترکیب توروو × ایزابلا مشاهده شد در حالی که سایر ترکیبات پیوندی با هم اختلاف معنی‌داری نداشتند. در پژوهش حاضر پیوند ایزابلا بر روی پایه توروو باعث کاهش پتاسیم برگ شد (شکل D-۴). افزایش پتاسیم برگ در دور آبیاری ۶ روز نسبت به شاهد را می‌توان به‌دلیل تنظیم فشار اسمزی و نقش یون پتاسیم در کنترل روزنه دانست (Shokrani and Pirzad, 2012). همچنین گزارش شد که علت افزایش جذب پتاسیم تحت شرایط خشکی را می‌توان به مکانیسم جذب فعال این یون به‌وسیله گیاه نسبت داد که بدین وسیله مقاومت خود را در برابر تنش بالا می‌برد. همچنین دلیل پایین بودن مقدار پتاسیم در ترکیب پیوندی توروو × ایزابلا را می توان به نقش پایه در جذب این عنصر دانست (Yetisir *et al*., 2013).

فسفر برگ

نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر اصلی دور آبیاری و ترکیب پیوندی بر میزان فسفر برگ در سطح احتمال پنج در صد ($p\leq0.05$) معنی دار شد. ولی اثرات متقابل بر میزان صفت مذبور معنی‌دار نشد (جدول ۳). با افزایش دور آبیاری میزان فسفر برگ افزایش پیدا کرد اما بین دور آبیاری ۶ و ۹ روز اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل D-۳). در رقم ایزابلا پایه توروو باعث کاهش میزان فسفر برگ نسبت به ترکیبات غیرپیوندی و خودپیوندی آن شد اما در رقم دافنیس، ترکیبات دگرپیوندی و خود پیوندی با غیرپیوندی اختلاف معنی‌دار نداشتند (شکل E-۴). از مهمترین سازوکارها می‌توان به کارکرد مؤثرتر ناقلین مسئول جذب فسفات، افزایش جذب فسفر به‌دنبال توسعه بیشتر ریشه‌ها و آزادسازی بیشتر ترکیبات حل‌کننده فسفات نامحلول به خاک اشاره کرد (Rodrigues *et al*., 2010). در بررسی تأثیر دو پایه مختلف روی جذب و محتوای عنصرهای غذایی اصلی (ماکرو) در برگ‌های خربزه و طالبی گزارش شده است که غلظت فسفر، پتاسیم و به‌ویژه نیتروژن در برگ‌های گیاهان پیوندی در مقایسه با گیاهان غیرپیوندی بیشتر بود که دلیل آن را به تأثیر پایه نسبت دادند (Rodrigues *et al*., 2010). هانگ و همکاران (Huang *et al*., 2013) تفاوت معنی‌داری در غلظت فسفر در برگ‌ها و میوه‌های خیارهای پیوندی روی دو پایه مختلف مشاهده نکردند که در راستای پژوهش فوق مبنی بر عدم تاثیر پایه در غلظت فسفر برگ در رقم دافنیس است. ویژگی‌های ریخت شناختی ریشه تنها عامل مؤثر روی جذب و انتقال فسفر در گیاه نبوده و باید نژادگان پیوندک و گونه گیاهی نیز بایستی در نظر گرفته شود

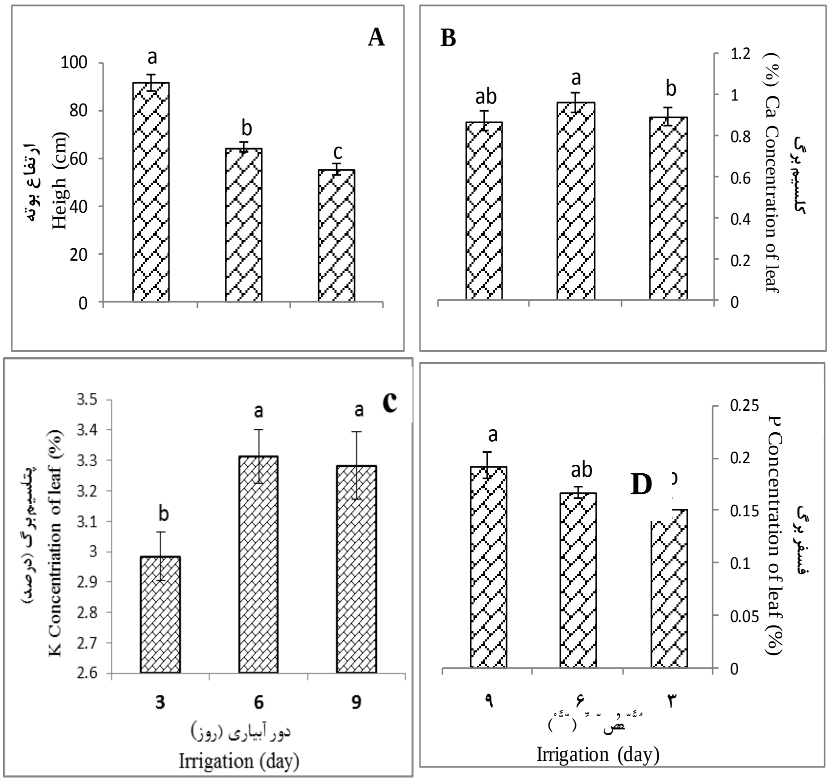
جدول ۳- تجزیه واریانس اثر دور آبیاری و ترکیب پیوندی بر میزان عناصر کلسیم، منیزیم، پتاسیم و فسفر برگ گوجه‌فرنگی

Table 3- ANOVA for the effect of irrigation period and grafting combinations on leaf elements concentrations of calcium, magnesium, potassium and phosphorus of tomato

منابع تغییرات Sources of variation	درجه آزادی Degrees of freedom	میانگین مربعات Mean squares			
		Ca	Mg	K	P
دورآبیاری Irrigation period (I)	2	0.052 *	0.004 **	0.791 *	0.010 *
ترکیب پیوندی Graftting combination (G)	5	0.0527 **	0.013 **	0.623 **	0.007 *
G ×I	10	0.026 ns	0.002 **	0.177 ns	0.002 ns
خطا Error	54	0.016	0.000	0.184	0.002
ضریب تغییرات CV (%)	-	14.16	22.56	13.46	27.53

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

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



شکل ۳- اثر دور آبیاری بر ارتفاع بوته (A)، و غلظت کلسیم (B)، پتاسیم (C) و فسفر برگ (D).

Figure 3- The effect of irigation period on plant height (A), and Ca (B), K (C) and P (D) concentration of leaf (DMRT, *p ≤0.05*)

شکل ٤- اثر ترکیب پیوندی بر ارتفاع بوته (A)، سطح ویژه برگ (B)، و کلسیم (C)، پتاسیم (D) و فسفر (E) برگ گوجه‌فرنگی. D : 'دافنیس'، E: 'ایزابلا' و T: 'توروومٔ.

Figure 4- The effects of grafting combination on plant height (A), leaf area specific (B), and Ca (C), K (D), and P concentration of leaf (E), D: 'Daphnis', E: 'Ezabella', T: 'Torvum' (*DMRT, p ≤0.05*).

نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تنش خشکی بیشترین تاثیر خود را بر تولید ماده خشک، رشد برگ و ریشه و مقدار عناصر و رنگدانه‌های فتوسنتزی در گیاه گوجه‌فرنگی داشت. براساس نتایج پژوهش حاضر، مشخص شد که در ترکیب پیوندی دافنیس بر روی پایه توروم اکثر پارامترهای رویشی و فیزیولوژیکی در مقایسه با گیاهان خودپیوندی و یا غیرپیوندی کاهش معنی‌داری داشت که به احتمال زیاد می‌تواند بخاطر اثرات پاکوتاه‌کنندکی این پایه و یا ناسازگاری پیوندی در ترکیب پیوندی فوق باشد. همچنین دیده شد که در بین گیاهان خودپیوندی و غیر پیوندی در اکثر پارامترهای رویشی اندازه‌گیری شده تفاوت معنی‌داری در دور آبیاری ۳ روز مشاهده نشد که حاکی از آن است که اثرات مشاهده شده در ارتباط با تأثیر پایه بوده و ارتباط چندانی با محل پیوندگاه نمی‌باشد.

بر خلاف گزارشات پیشین که استفاده از پایه بادنجان را باعث افزایش فاکتورهای رویشی و فیزیولوژیکی گوجه فرنگی گزارش کرده اند در تحقیق حاضر پایه توروم باعث کاهش و یا بدون تاثیر بر فاکتورهای رویشی بود که می‌تواند به متفاوت بودن ساختار ژنتیکی پایه و پیوندک‌های مورد استفاده و یا رویشی بودن پایه مورد استفاده (تکثیر از طریق قلمه) در این تحقیق باشد. بطور کلی با توجه به نتایج پژوهش حاضر می‌توان بیان کرد که در شرایط تنش خشکی ترکیب پیوندی ایزابلا بر روی پایه توروم از لحاظ فاکتورهای مورد بررسی وضعیت مطلوب‌تری برخوردار بود که توصیه می‌شود در این زمینه پژوهش‌های بیشتری صورت پذیرد.

منابع

1. Ainigar Sadafi, H., Zahedi, B., Mousavi Fard, P., & Moradipour, F. (2015). *The effect of bases on quantitative and qualitative characteristics of two commercial tomato cultivars*. Master Thesis of Lorestan University.
2. Alc-ázar, R., Altabella, T., Marco, F., Bortolotti, C., Reymond, M., Koncz, C., & Tiburcio, A.F. (2010). Polyamines: molecules with regulatory functions in plant abiotic stress tolerance. *Planta*, *231*(6), 1237-1249. https://doi.org/10.1007/s00425-010-1130-0
3. Arnon, D.I(1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. *Journal of Plant Physiology*, *24*, 1-15. https://doi.org/10.1104/pp.24.1.1
4. Asseng, S., & van Herwaarden, A.F. (2003). Analysis of the benefits to wheat yield from assimilates stored prior to grain filling in a range of environments. *Plant Soil*, *256*, 217–239. https://doi.org/10.1023/A:1026231904221
5. Colla, G., Rouphael, Y., Leonardi, & Bie, Z. (2010). Role of grafting in vegetable crops grown under saline conditions. *Scientia Horticulturae*, *127*(2), 147-155. https://doi.org/10.1016/J.SCIENTA.2010.08.004
6. Colla, G., Rouphael, Y., Cardarelli, M., Salerno, A., & Rea, E. (2010). The effectiveness of grafting to improve alkalinity tolerance in watermelon. *Environmental and Experimental Botany*, *68*(3), 283-291. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2009.12.005
7. Delauney, A.J., & Verma, D.P.S. (2002). Proline biosynthesis and osmoregulation Plants. *The Plant Journal*, *2*, 122-112. https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.1993.04020215.x
8. Estefan, G., Sommr, R., & Ryan, J. (2013). *Method of soil, plant and water analysis*. Third Edition. Beirut, Lebanon: International Center for Agricultural Research in the Dry Areas. 250 p.
9. Farooq, M., Vahid, A., Lee, D.J., Ito, O. & Siddique, K.H. (2009). Advances in drought resistance of rice. *Critical Reviews in Plant Sciences*, *28*(4), 199-217. https://doi.org/10.1080/07352680902952173
10. Germana, C. (1997). Experiences on the response of almond plants (A. *communis* L.) to water stress. *Acta Horticulturae*, *449*, 497-503. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1997.449.69
11. Ghazanshahi, J(2006). *Soil and plant analysis*. Aeizh Publications, 274p. (In Persian)
12. Gisbert-Mullor, R., Pascual-Seva, N., Martinez-Gimeno, M., Lopez-Serrano, L., Badal Marin, E., Perez-Perez, J., Bonet, L., Padilla, Y.G., Calatayud, A., Pascual, B., & Lopez-Galarza, S. (2020). Grafting onto an appropriate rootstock reduces the impact on yield and quality of controlled deficit irrigated pepper crops. *Agronomy*, *10*,15-29. https://doi.org/10.3390/agronomy10101529
13. Goto, R., de Miguel, A., Ignacio Marsal, J., Gorbe, E., & Calatayud, A. (2013). Effect of different rootstocks on growth, chlorophyll a fluorescence and mineral composition of two grafted scions of tomato. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, *36*, 825–835. https://doi.org/10.1080/01904167.2012.757321
14. Gregorian, V. (2002). *Physiology and methods of grafting*. Amidi Publications, 351 pages.
15. Gupta, A.P., Neue, H.U., & Singh, V.P. (1993). Phosphorus determination in rice plants containing variable manganese contant by the phosphor molybdo vanadate (yellow) and phosphomolybdate (blue) colorometric methods. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, *24*, 1309-1328. https://doi.org/10.1080/00103629309368878
16. Hassani, B., & Seidi, M. (2013). *The effect of drought tolerant rootstocks and different irrigation regimes on the quality and yield of Early Orbata tomatoes*. Master Thesis, Faculty of Agriculture, Ilam University.
17. Huang, Y., Hua, L., Liu, B., Fan, Z., & Bie, Z. (2013). Grafting onto different rootstocks as a means to improve watermelon tolerance to low potassium stress. *Scientia Horticulturae*, *149*(14), 80-85. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2012.02.009
18. Isfendiyaroglu, M., & Zeker, E. (2002). The relation between phenolic compound and seed dormancy in *Pistacia* spp. In AKB. E. (ed.). *11 Grema Serr Pistachios and Almond. Chieres optins Mediterraneenes*, *56*, 232-277.
19. Kashi, A., Salehi, R., & Javanpour Heravi, R. (2008). *Grafting technology in growing and producing vegetables.* Agricultural Education Publications, first edition, 212 p.
20. Keshavarznia, R., Shahbazi, M., Mohamadi, V., Hosseini Salekdeh, G., Ahmadi, E., & Mohseni Fard, A. (2014). The role of root structure and physiological traits of barley in response to drought stress. *Iranian Journal of Crop Science*, *45*(4), 553-563. https://doi.org/10.22059/ijfcs.2017.202541.654065
21. Kirnak, H., Kaya, C., Tas, E., & Higgs, D. (2001). The Influence of water deficition on vegetative growth, physiology, fruit yield and quality in eggplants. *Bulgarian Journal Plant Physiology*, *27*(3–4), 34–46.
22. Latifah, V., Widaryanto, E., Maghfoer, M.D., & Arifin. (2021). Economic analysis, growth and yield of grafting tomato varieties for *Solanum torvum* as a rootstock. *African Journal of Agricultural Research*, *17*(5), 733-742.
23. Lutts, S., Kinet, J.M., & Bouharmont, J. (1996). NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Journal Annals of Botany*, *78*, 389-398. https://doi.org/10.1006/anbo.1996.0134
24. Mahmoudnia Meymand, M., Farsi, M., Marashi, S.H., & Ebadi, P. (2012). Investigation of physiological responses of four tomato species to drought stress. *Journal of Horticultural Sciences* *26*(4), 409-416. https://doi.org/10.22067/jhorts4.v0i0.18252

25. Miguel, A., Maroto, J.V., San Bautista, A., Baixauli, C., Cebolla, V., Pascual, B., & Guardiola, J.L. (2004). The grafting of triploid watermelon is an advantageous alternative to soil fumigation by methyl bromide for control of Fusarium wilt. *Scientia Horticulturae*, *103*(1), 9-17. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2004.04.007
26. Molavi, H., Liaqat, V., & Mohammadi, M. (2012). Optimizing water consumption and determining the sensitivity coefficients of tomatoes under both conditions salinity and drought stress in Karaj region. *Journal of Water and Soil*, *3*(24), 592-583.
27. Patakas, A., Nikolaou, N., Zioziou, E., Radoglou, K., & Noitsakis, B. (2002). The role of organic solute and ion accumulation in osmotic adjustment in drought-stressed grapevines. *Plant Science*, *163*(2), 361-367. https://doi.org/10.1016/S0168-9452(02)00140-1
28. Paquin, R., & Lechasseur, P. (1979). Observations sur une méthode de do-sage de la proline libre dans les extraits de plantes. *Candian Journal of Botany*, *57*, 1851–1854. https://doi.org/10.1139/b79-233
29. Petran, A., & Hoover, E. (2014). *Solanum torvum* as a compatible rootstock in interspecific tomato grafting. *Jornal of Horticulture*, *1*(1), 1-4. https://doi.org/10.4172/2376-0354.1000103
30. Rezai, Z. (2016). *The effect of different super absorbent polymer and animal manure ratios on quantitative and qualitative characteristic of fennel under drought stress conditions*. M.Sc. Thesis in Agronomy, Shahrekord, Iran.
31. Rodrigues, J.G., Edvardo, P.M.J., Forner, B., & Angeles, F. (2010). Citrus rootstocks response to water stress. *Sciatica Horticulturae*, *126*, 95-102.
32. Ruiz, J.M., Belakbir, A., López-Cantarero, I., & Romero, L. (1997). Leaf-macronutrient content and yield in grafted melon plants. A model to evaluate the influence of rootstock genotype. *Scientia Horticulturae*, *71*(3), 227-234. https://doi.org/10.1016/S0304-4238(97)00106-4
33. Sadeghzadeh-Ahari, D., Hass, M.R., Kashi, A.K., Amiri, A., & Alizadeh, A. (2010). Genetic variability of some agronomic traits in the Iranian Fenugreek landraces under drought stress and non-stress conditions. *African Journal of Plant Science*, *4*(2), 12-20.
34. Salisbury, F.B., & Ross, C.B. (1991). *Plant physiology*. Wadasworth publishing ompany, 316-321.
35. Shahabi, M.R., Zakeri, A., & Shirzadi, H. (2013). The effect of different grafting methods on the growth and yield of RedTop grafted tomatoes, the first national electronic conference "*New Topics in Horticulture", Jahrom University*, 455-459.
36. Shahbazi, P., Karimi, N., & Ghasempour, H.R. (2014). *Investigation of the effect of drought stress on biochemical and physiological processes of two varieties of Lycopersicun esculentum* L., *Kali and Early Orabana*. Master Thesis, Faculty of Agriculture, Razi University.
37. Shokrani, F., & Pirzad, A. (2012). Evaluation of biological nitrogen influence on oil variations and nutrient content of *Calendula officinalis* L. under drought stress conditions. *Middle-East Journal of Scientific Research*, *11*(11), 1550-1555. https://doi.org/10.5829/idosi.mejsr.2012.11.11.1632
38. Smolinski, A.T., & Pestka, J.J. (2003). Modulation of lipopolysaccharide-induced proinflammatory cytokine production in vitro and in vivo by the herbal constituents apigenin (chamomile), ginsenoside Rb1 (ginseng) and parthenolide (feverfew), *Food Chemical Toxicology*, *41*1381-1390. https://doi.org/10.1016/s0278-6915(03)00146-7
39. Suchoff, D.H., Gunter, C.C., & Schultheis, R.J. (2018). Rootstock effect on grafted tomato transplant shoots and root responses to drying soils. *Horticulture Science*, *53*(11), 1586-1592. https://doi.org/10.21273/HORTSCI13215-18
40. Urlic, B., Runjic, M., Zanic, K., Mandusic, M., Vuletin Selak, G., Paskovic, I., & Dumicic, G. (2020). Effect of partial root-zone drying on grafted tomatoin commercial greenhouse. *Horticultural Science*, *47*(1), 36-44. https://doi.org/10.17221/130/2018-HORTSCI
41. Wang, Y.Q. (2011). Plant grafting and its application in biological research. *Chinese Science Bulltein*, *56*, 3511–3517. https://doi.org/10.1007/s11434-011-4816-1
42. Waraich, E.A., Ahmad, R., Ashraf, M., Saifullah, Y., & Ahmad, M. (2011). Improving agricultural water use efficiency by nutrient management in crop plants. *Acta Agriculture. Scand, Section B Plant Soil Science*, *61*, 291–304. https://doi.org/10.1080/09064710.2010.491954
43. Yetisir, H., Ozdemir, A.E., Aras, V., Candir, E., & Aslan, O. (2013). Rootstocks effect on plant nutrition concentration in different organ of grafted watermelon. *Agricultural Sciences*, *4*(5), 230-237.

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

Research Article
Vol. 37, No. 2, Summer 2023, p. 497-508

The Effect of Ascorbic Acid on Growth and Some Biochemical Properties of Bell Pepper (*Capsicum annuum*) Seedling under Salinity Stress

S. Parsajoo[1], F. Dashti[2*]

Received: 29-06-2022
Revised: 04-08-2022
Accepted: 06-08-2022
Available Online: 06-08-2022

How to cite this article:
Parsajoo, S., & Dashti, F. (2023). The effect of ascorbic acid on growth and some biochemical properties of bell pepper (*Capsicum annuum*) seedling under salinity stress. *Journal of Horticultural Science, 37*(2), 497-508. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jhs.2022.77340.1182

Introduction

Plants are sometimes exposed to several stresses during their growth and development. Salinity stress is one of the most common abiotic stresses that significantly reduces the growth and yield of most plant species. A large part of the soils and a significant volume of all water resources in Iran are affected by salinity to varying degrees. Due to the rapid population growth and the need for more food and the water crisis, the use of unconventional water such as salt water or wells and treated wastewater in agriculture has received more attention. Soil and water salinity is one of the integrative problems in agriculture and is one of the most important barriers to crop production in the world. Salinity stress reduces the ratio of carbon dioxide to oxygen in the leaves by closing the leaves stomata and prevents the stabilization of carbon dioxide. Under these conditions, the formation rate of reactive oxygen species in chloroplasts and mitochondria increases, the electrons produced react with oxygen by photosynthesis and lead to the production of oxygen free radicals. These affects the growth, yield and quality of agricultural products. The use of antioxidant compounds can moderate the effects of this stress. Many compounds have been used to reduce the harmful effects of salinity stress. Ascorbic acid is a water soluble antioxidant and has some effects on plant resistance against environmental stresses by neutralizing free radicals. Researches showed that ascorbic acid increased plant resistance on various stresses such as salinity and drought. It has been widely used to control the effects of salinity stress. The aim of this study was to investigate the effect of ascorbic acid on resistance to salinity stress in bell pepper seedlings.

Materials and Methods

This study was done as a factorial experiment in a completely randomized design including ascorbic acid treatment (0, 1, 3 and 5 mM) and salinity stress of sodium chloride (0 and 100 mM) in 3 replications. The seeds of bell pepper Cv. California Wonder were planted in a seedling tray containing cocopeat. After emergence of cotyledons, they were fertilized with complete fertilizer (N20, P20, K20). At the stage of three true leaves the salinity treatment were started. One week before the beginning of salinity treatment, ascorbic acid was sprayed on plants and repeated two more times by seven days interval. Salinity treatment was applied by irigation for three weeks. After producing 5 leaves, a few growth properties (plant fresh and dry weight, root fresh and dry weight, leaf number and leaf area), biochemical characteristics (amounts of total chlorophyll, proline, soluble proteins, ion leakage and malondialdehyde and activity of Catalase an Proxidase enzymes) and amounts of some elements (K, P, Na, Fe, Zn and Cu) were measured.

1 and 2- Former M.Sc. Student and Associated Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: fdashti@basu.ac.ir)
DOI: 10.22067/jhs.2022.77340.1182

Results and Discussion

Based on the results, the simple effect of salinity stress, ascorbic acid and the combined effect of them on ion leakage and amounts of malondialdehyde were significant at the level of 1% probability. Salinity stress increased the amounts of ion leakage and malondialdehyde and application of 5 mM ascorbic acid reduced the amount of these traits to 41.01% and 46.58% compared to the control respectively. The effect of salinity stress, ascorbic acid and the combined effect of them on the concentration of proline and chlorophyll in the leaves of bell pepper were significant at the level of 1% probability. Salinity stress increased the amount of proline but decreased chlorophyll and leaf protein of pepper seedlings and application of 5 mM ascorbic acid increased them to 79.42% and 46.57% compare to control respectively. Under salinity stress the uptake of iron, zinc, copper and phosphorus decreased; using of 5 mM ascorbic acid increasing accumulation of these elements in leaves .On the other hand ascorbic asid could decrease the amounts of sodium accumulation in seedling,s leaves. The results showed that, salinity decreased growth indices (number of leaves, leaf surface, fresh weight of roots and plants) and ascorbic acid reduced the effect of salinity stress on growth parameters. Under salinity stress, 5 mM ascorbic acid treatment increased the leaf surface to 36.30% compared to salinity without ascorbic acid tretment. The effects of salinity stress and the combined effect of salinity stress and ascorbic acid on the amount of catalase and peroxidase enzymes were significant at the level of 1% probability. The effect of ascorbic acid was significant for catalase at 5% probability level and peroxidase at 1% probability level. Although salinity increased the amounts of the antioxidant catalase and peroxidase enzymes but ascorbic acid could increased the activity of them in saline condition.

Conclusion

It seems that application of ascorbic acid as an antioxidant could reduce the effects of salinity stress by increasing the activity of catalase and peroxidase enzymes, reducing sodium uptake and increasing the uptake of phosphorus, potassium, iron, zinc and copper. These could have positive effects on the growth parameters of bell pepper seedlings in salinity conditions. Generally, on based of obtained results, spraying 5 mM Ascorbic acid on bell pepper seedlings modified the resistance of them in salinity stress conditions.

Keywords: Antioxidant enzymes, Chlorophyll, Proline, Sodium chloride

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

مقاله پژوهشی
جلد ۳۷، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۲، ص. ۵۰۸-۴۹۷

اثر اسید آسکوربیک بر رشد و برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی نشاء فلفل دلمه‌ای (*Capsicum annuum*) تحت تنش شوری

سپیده پارساجو[1]- فرشاد دشتی[2]*

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۴/۰۸
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۵/۱۳
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۵/۱۵

چکیده

شوری خاک و آب یکی از مشکلات در حال افزایش کشاورزی و از مهم‌ترین موانع تولید محصول در جهان است. ترکیبات زیادی در زمینه کاهش اثرات زیان آور تنش شوری مورد استفاده قرار گرفته است. اسید آسکوربیک آنتی‌اکسیدان محلول در آب می‌باشد که با بی اثر کردن رادیکال‌های آزاد موجب مقاومت گیاهان در برابر تنش‌های محیطی می‌شود. در این پژوهش تأثیر اسید آسکوربیک بر کاهش اثرات شوری در تولید نشاء گیاه فلفل دلمه ای در شرایط کشت گلخانه‌ای مطالعه شده است. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در دو سطح نمک کلرید سدیم (صفر و ۱۰۰ میلی‌مولار) در آب آبیاری و چهار سطح اسید آسکوربیک (صفر، یک، سه و پنج میلی‌مولار) با سه تکرار انجام شد. نتایج نشان داد تنش شوری موجب افزایش نشت یونی و تولید مالون‌دی‌آلدئید شد و کاربرد اسید آسکوربیک در غلظت ۵ میلی‌مولار موجب کاهش میزان این صفات در شرایط تنش شوری شد. تنش شوری موجب افزایش میزان پرولین و کاهش کلروفیل کل و پروتئین برگ نشاء فلفل دلمه‌ای شد در حالی‌که کاربرد اسید آسکوربیک با غلظت ۵ میلی‌مولار موجب افزایش صفت‌های نام برده شد. از طرف دیگر در گیاهان تحت تنش شوری جذب عناصر آهن، روی، مس و فسفر کاهش و سدیم افزایش یافت که کاربرد اسید آسکوربیک باعث افزایش تجمع سه عنصر اول و کاهش تجمع سدیم در برگ گیاهان شد. از نظر شاخص‌های رشد، تنش شوری باعث کاهش صفات رشدی (تعداد برگ، سطح برگ، وزن تر ریشه و برگ) شد و تیمار با اسید آسکوربیک اثر تنش شوری را بر پارامترهای رویشی کاهش داد بطوری‌که تحت تنش شوری، تیمار اسید آسکوربیک ۵ میلی‌مولار توانست سطح برگ را نسبت به تیمار شوری بدون کاربرد اسید آسکوربیک افزایش دهد. از طرف دیگر کاربرد اسید آسکوربیک باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و پراکسیداز شد. به‌طور کلی با توجه به نتایج حاصله می‌توان گفت محلول‌پاشی با غلظت ۵ میلی‌مولار اسید آسکوربیک در نشاء گیاه فلفل دلمه‌ای باعث بهبود مقاومت به شرایط تنش شوری می‌شود.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، پرولین، کلروفیل، کلرید سدیم

مقدمه

بخش گسترده‌ای از خاک‌ها و حجم چشم‌گیری از کل منابع آبی موجود در کشور ایران به درجات مختلف مبتلا به شوری هستند. تنش شوری عبارت از حضور نمک با غلظت بالا در محلول خاک است. گیاهان درطول رشد و نمو، در معرض تنش‌های غیر زیستی بسیاری قرار دارند. تنش شوری یکی از مهمترین موانع رشد و نمو در گیاهان است. بیشتر تنش‌های شوری مربوط به نمک‌های سدیم به ویژه کلریدسدیم است (Khan *et al*., 2009). با توجه به رشد سریع جمعیت و نیاز به مواد غذایی بیشتر و نیز بحران آب بحث استفاده از آب‌های نامتعارف مانند آب شور دریا یا چاه و پساب تصفیه شده در کشاورزی بیش از پیش مورد توجه قرار گرفته است. به‌طور کلی آب هایی شور تلقی می‌شوند که غلظت املاح کل در آن‌ها بیش از ۵۰۰۰

۱ و ۲- به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد سابق و دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان
(*- نویسنده مسئول: (Email: fdashti@basu.ac.ir
DOI: 10.22067/jhs.2022.77340.1182

میلی‌گرم در لیتر باشد (Abedi *et al*., 2002).

تنش‌های غیرزیستی با جلوگیری از جذب آب از خاک به طور همزمان رشد طبیعی گیاهان را تحت تأثیر قرار داده و روی رشد گیاه تأثیر منفی می‌گذارند (Marcelina *et al*., 2015). تنش شوری باعث بسته شدن روزنه‌ها و کاهش نسبت دی‌اکسیدکربن به اکسیژن در برگ‌ها شده و از تثبیت دی‌اکسیدکربن جلوگیری می‌کند. در این شرایط سرعت تشکیل انواع گونه‌های فعال اکسیژن در میتوکندری و کلروپلاست افزایش می‌یابد (Nawaz and Ashraf, 2010). پاسخ گیاه به تنش شوری متفاوت است و به میزان سمیت و پتانسیل اسمزی نمک و مدت زمان تنش بستگی دارد (Agami, 2014).

یک تکنیک کارآمد برای کاهش تنش‌شوری در گیاهان استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی نظیر اسید آسکوربیک است (Agami, 2014). اسید آسکوربیک به‌عنوان ویتامین محلول در آب، یکی از آنتی‌اکسیدان‌های مهم در گیاهان است که در بخش‌های مختلف گیاه تجمع می‌یابد و غلظت آن در برگ‌ها بیشتر است. اسید آسکوربیک در برابر رادیکال‌های آزاد و اکسیژن فعال، همراه با آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند گلوتاتیون و آلفاتوکوفرول با عنوان چرخه آسکوربات گلوتاتیون عمل کرده و تصفیه و حذف این رادیکال‌های آزاد را برعهده دارد (Conklin, 2001).

به‌کارگیری اسید آسکوربیک برون‌زاد همزمان با تنش نشان داده است که تا حدودی اثرات مخرب تنش کاهش می‌یابد. پژوهش‌ها نشان می‌دهد، اسید آسکوربیک باعث افزایش مقاومت گیاهان در برابر تنش‌های مختلف از جمله شوری و خشکی می‌شود (Smirnoff, 2000).

اثرات مثبت آنتی‌اکسیدان‌ها در کاهش نشت الکترولیتی گیاه فلفل در شرایط تحت تنش شوری گزارش شده است (Khan *et al*., 2009). شالاتا و نئومان (Shalata and Neumann, 2001)، گزارش کردند اضافه کردن اسید آسکوربیک به صورت تغذیه برگی، با بهبود و افزایش رشد ریشه و جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدی سبب بهبود مقاومت به تنش در گوجه‌فرنگی تحت شرایط شوری شد. این محققین مشاهده کردند که افزودن اسید آسکوربیک (۰/۵ میلی‌مولار) پیش از تیمار شوری به طور قابل توجهی به بازیابی و نجات دانهال‌های پژمرده گوجه‌فرنگی کمک کرد. ساجید و آفتاب (Sajid, and Aftab, 2009)، تأثیر کاربرد خارجی اسید آسکوربیک بر ایجاد تحمل به شوری در گیاه سیب زمینی را بررسی کرده و دریافتند که کاربرد اسید آسکوربیک در سطوح بالای شوری باعث تشکیل ریشه و افزایش نسبت رشد اندام هوایی به ریشه، تشکیل گره‌های بیشتر، افزایش تعداد شاخه‌ها و ریشه‌ها نسبت شاهد شد.

باتوجه به وجود چالش شوری منابع آب در بسیاری از گلخانه‌ها، این تحقیق برآن است که تأثیر اسید آسکوربیک را بر کاهش اثرات تنش شوری در پرورش نشأ فلفل بررسی نماید.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در گلخانه تحقیقاتی و آزمایشگاه دانشگاه بوعلی سینا بصورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو فاکتور اسید آسکوربیک در چهار سطح (صفر، یک، سه و پنج میلی مولار) و تنش شوری کلرید سدیم در دو سطح (صفر و ۱۰۰ میلی مولار) با ۳ تکرار انجام شد. در طی انجام آزمایش دمای گلخانه در طی روز ۲±۲۵ و شب ۲± ۱۸ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۷۰ درصد بود.

بذور فلفل دلمه‌ای رقم ’کالیفرنیا واندر‘ برای جوانه‌زنی هرچه بهتر به مدت ۴ ساعت در آب مقطر خیسانده و به مدت دو روز در بین دستمال مرطوب نگهداری شدند. سپس بذور در سینی‌های نشا ۷۲ حفره ای با حجم ۲۴ میلی‌لیتر و عمق ۵۰ میلی‌متر حاوی کوکوپیت پرلیت (به نسبت ۶ به ۴) کاشته شدند.

پس از کشت بذور و تا خروج برگ‌های حقیقی، بسترها روزانه آبیاری شدند. بعد از خروج لپه‌ها، گیاهچه‌ها با کود کامل $N_{20}P_{20}K_{20}$ (یوروسالید هلند) ابتدا با غلظت یک در هزار و توام با رشد گیاه در زمان گسترش اولین برگ با غلظت دو در هزار و در زمان گسترش دومین برگ تا انتهای آزمایش با غلظت چهار در هزار تغذیه شدند. تیمار شوری کلرید سدیم پس از گسترش دومین برگ حقیقی و از طریق آب آبیاری شروع و سه هفته به طول انجامید. برای جلوگیری از تجمع نمک، بستر کاشت با فاصله یکبار در هفته آبشویی شد. تیمار اسید آسکوربیک بصورت محلول پاشی برگی یک هفته قبل از شروع تیمار شوری انجام شد و بصورت هفتگی و در مجموع ۴ بار انجام گردید.

نشاها در مرحله ۵ برگی به آزمایشگاه منتقل شده و صفات مختلف شامل وزن تر و خشک بوته، تعداد و سطح برگ، رنگدانه‌های فتوسنتزی (Bates *et al*., 1973)، پرولین (Yang *et al*., 1998)، پروتئین محلول برگ (Bradford, 1976)، نشت یونی (Lutts *et al*., 1996)، غلظت مالون‌دی‌آلدئید (Heath and Packer, 1968)، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (Aebi, 1984) و پراکسیداز (Herzog and Fahimi, 1973)، پتاسیم، فسفر، سدیم، آهن، مس و روی (Mostofi and Najafi, 2005) اندازه‌گیری شد. تجزیه واریانس با نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۲) و مقایسه میانگین صفات با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت.

نتایج و بحث

بطور کلی اثر تیمار شوری، اسید آسکوربیک و اثر متقابل این دو بر اکثر صفات مورد اندازه‌گیری معنی‌دار بود که نشان دهنده تاثیر این

دو فاکتور در صفات رشدی، بیوشیمیایی و جذب عناصر در نشاء فلفل است.

صفات رشدی

براساس نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس داده‌های مربوط به صفات رشدی در نشاهای فلفل، اثرات ساده اسید آسکوربیک، تنش شوری و اثر متقابل این دو در تمامی صفات (بجز اثر ساده اسید اسکوربیک بر تعداد برگ) در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱).

تعداد برگ

براساس نتایج مقایسه میانگین‌ها مشاهده گردید که تعداد برگ در شرایط تنش‌شوری کاهش معنی‌داری نسبت به شرایط عدم تنش پیدا کرده است و اسید آسکوربیک توانست خسارت ناشی از تنش شوری را جبران کند. در تیمار عدم شوری و کاربرد اسید آسکوربیک ۵ میلی‌مولار و تیمار شوری و کاربرد اسید آسکوربیک ۵ میلی‌مولار به ترتیب افزایش ۱۰/۵۸ و ۱۳/۰۲ درصدی تعداد برگ نسبت به تیمارهای شوری و عدم شوری بدون کاربرد اسید آسکوربیک مشاهده شد (جدول ۲).

سطح برگ

مقایسه میانگین‌های اثرات ترکیب تیمارها در صفت سطح برگ نشان می‌دهد که بالاترین میزان سطح برگ مربوط به تیمار عدم تنش شوری و کاربرد اسید آسکوربیک ۵ میلی‌مولار است و اسید آسکوربیک در این تیمار موجب افزایش قابل‌ملاحظه‌ی صفت سطح برگ شده است. همچنین در شرایط تنش شوری کاربرد اسید آسکوربیک ۵ میلی‌مولار موجب افزایش ۳۶/۳۰ درصدی سطح برگ نسبت به شوری بدون کاربرد اسید آسکوربیک شده است (جدول ۲).

وزن تر و خشک ریشه

نتایج مقایسه میانگین‌های مربوط به اثر ترکیبی تنش و اسید آسکوربیک برای وزن تر و خشک ریشه بیانگر این است که در شرایط عدم تنش، وزن ریشه نسبت به تنش شوری بالاتر بوده و اسید آسکوربیک تا حدودی توانست خسارت ناشی از تنش را جبران کند. بیشترین مقدار وزن ریشه مربوط به تیمار عدم تنش و کاربرد اسید آسکوربیک ۵ میلی‌مولار بود. همچنین در شرایط تنش شوری کاربرد اسید آسکوربیک ۵ میلی‌مولار باعث افزایش معنی‌دار وزن ریشه نسبت به تیمار شوری و عدم کاربرد اسید آسکوربیک شد (جدول ۲).
نتایج این پژوهش با نتایج دیگر از جمله کاهش وزن خشک ریشه فلفل (Shayesteh *et al*., 2011) و گوجه‌فرنگی (Tabatabayan, (Mir Mohammad Mobidi and Qarah Yazdi, 2002;2014 در اثر تنش مطابقت داشته است.

وزن تر و خشک بوته

نتایج مقایسه میانگین‌های مربوط به اثر متقابل تنش و اسید آسکوربیک برای وزن تر و خشک بوته بیانگر این موضوع است که در شرایط عدم تنش بالاترین وزن تر و خشک بوته مربوط به تیمار عدم تنش شوری و کاربرد اسید آسکوربیک ۵ میلی‌مولار بود و کمترین میزان وزن تر مربوط به شرایط تنش شوری بدون کاربرد اسید آسکوربیک بود و با کاربرد اسید آسکوربیک در شرایط تنش وزن تر و خشک بوته افزایش یافت که می‌تواند نشان دهنده نقش مؤثر اسید آسکوربیک در تعدیل اثرات تنش شوری باشد (جدول ۲).

جدول ۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر شوری و اسید آسکوربیک بر صفات رشدی نشاء فلفل دلمه‌ای رقم 'کالیفرنیا واندر'
Table 1- ANOVA (mean squares) for the effects of salinity and ascorbic acid treatments on growth characteristics of *Capsicum annuum* cv. 'California Wonder' seedlings

منابع تغییرات S.O.V	درجه ازادی DF	وزن تر ریشه Root Fresh weight	وزن خشک ریشه Root dry weight	وزن تر بوته Plant fresh weight	وزن خشک بوته Plant dry weight	تعداد برگ Leaf number	سطح برگ Leaf area
شوری Salinity (S)	1	5.05**	0.005**	69.02**	0.45**	7.04**	83.20**
اسید آسکوربیک Ascorbic acid (A)	3	0.33**	0.001*	6.02**	0.07**	0.48^{ns}	20.88**
S ×A	3	1.11**	0.001**	13.18**	9.07**	1.27*	22.59**
خطا Error	16	0.002	0.00	0.01	0.002	0.50	2.52
ضریب تغییرات C.V (%)	-	9.30	18.01	3.57	6.46	11.86	10.90

ns، ** و * به‌ترتیب عدم معنی‌داری، معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.
ns, ** and *: non-significant, significant at $p \leq 0.01$ and $p \leq 0.05$, respectively.

جدول ۲- اثرات ساده و متقابل شوری و اسید سالیسیلیک بر صفات رشدی نشاء فلفل دلمه‌ای رقم 'کالیفرنیا واندر'

Table 2- The simple and interaction effects of salinity and ascorbic acid on growth characteristics of *Capsicum annuum* cv. 'California Wonder' seedlings

تیمار Treatment	وزن تر ریشه Root Fresh weight (g)	وزن خشک ریشه Root dry weight (g)	وزن تر بوته Plant fresh weight (g)	وزن خشک بوته Plant dry weight (g)	تعداد برگ Leaf No.	سطح برگ Leaf area (cm^2)
S0	1.45[a]	.0.01[a]	10.16[a]	0.79[a]	6.50[a]	16.42[a]
S1	0.53[b]	0.07[b]	6.77[b]	0.52[b]	5.41[b]	12.70[b]
A0	1.23[a]	0.07[b]	7.68[c]	0.54[d]	5.66[a]	12.41[c]
A1	1.16[a]	0.08[b]	7.74[c]	0.60[c]	5.83[a]	14.02[cb]
A2	0.86[b]	0.09[ab]	8.61[b]	0.69[b]	6.00[a]	14.93[b]
A3	0.72[c]	0.11[a]	9.83[a]	0.79[a]	6.33[a]	16.88[a]
A0×S0	2.14[a]	0.12[ab]	8.82[d]	0.68[cd]	6.33[ab]	14.77[cb]
A1×S0	0.96[d]	0.08[cde]	9.38[c]	0.70[c]	6.33[ab]	15.32[cb]
A2×S0	1.18[c]	0.10[abc]	10.25[b]	0.83[b]	6.33[ab]	15.77[b]
A3×S0	1.57[b]	0.128[a]	12.21[a]	0.98[a]	7.00[a]	19.64[a]
A0×S1	0.32[g]	0.05[e]	5.99[h]	0.41[f]	5.00[b]	10.06[d]
A1×S1	0.51[f]	0.07[de]	6.67[g]	0.50[e]	5.33[b]	12.72[cd]
A2×S1	0.56[f]	0.09[bcd]	6.95[f]	0.56[de]	5.33[ab]	13.90[bc]
A3×S1	0.76[e]	0.09[bcd]	7.46[e]	0.61[d]	5.66[ab]	14.13[bc]

حروف مشابه در هر تیمار و ترکیب تیمارها نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد. S_0 و S_1، به ترتیب شوری صفر و ۱۰۰ میلی‌مولار A۰، A۱، A۲ وA۳ به ترتیب اسید آسکوربیک صفر، ۱، ۳ و ۵ میلی‌مولار می‌باشد.

The same letters in each treatment and combination indicate no significant difference at the 5% of probability level based on Duncan's multiple range test. S0 and S1 are 0 and 100 mM of salinity and A0,A1,A2 and A3 are 0, 1, 3 and 5 mM of ascorbic acid respectively.

صفات فیزیولوژیک

براساس نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس داده‌های مربوط به صفات فیزیولوژیک در نشاهای فلفل، اثرات ساده اسید آسکوربیک، تنش شوری و اثر متقابل این دو بر تمامی صفات در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۳).

نشت یونی

نتایج مقایسه میانگین‌های صفت نشت یونی نشان داد شوری موجب افزایش معنی‌دار نشت یونی شده است اما اسید آسکوربیک موجب کاهش نشت یونی شده به طوری که تیمار ۵ میلی‌مولار اسید آسکوربیک کمترین میزان نشت یونی را موجب شده است (جدول ۴). کمترین میزان نشت یونی مربوط به تیمار شوری صفر و اسید آسکوربیک ۵ میلی‌مولار بود و بیشترین میزان این صفت از تیمار شوری ۱۰۰ و اسید آسکوربیک صفر میلی‌مولار به دست آمد. همچنین درترکیب تیمارها، اسید آسکوربیک ۱ و ۳ میلی‌مولار به همراه تنش‌شوری ۱۰۰ میلی‌مولار کاهش نشت‌الکترولیتی در مقایسه با شاهد را به دنبال داشت.

نتایج مشابهی از تأثیرآنتی اکسیدان‌ها در کاهش نشت یونی در شرایط شوری روی گوجه‌فرنگی (Shalata and Neumann, 2001)، به دست آمد که با نتایج به دست آمده از این پژوهش مطابقت دارد. تنش شوری از طریق تولید گونه‌های‌فعال‌اکسیژن سبب نشت مواد از جمله اسمولیت‌های سازگار از غشأهای زیستی می‌شود که این امر منجر به عدم توازن یونی در عرض غشأ شده وکاهش عملکرد غشأ و تعادل متابولیکی را در پی دارد (Stevens *et al.*, 2006). آنتی اکسیدان‌ها از طریق کاهش تجمع پراکسید هیدروژن از پراکسیداسیون لیپیدی و افزایش نفوذ پذیری غشاء جلوگیری کرده و مانع نشت یونی می‌گردند.

غلظت مالون‌دی‌آلدئید (میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشأ)

باتوجه به نتایج مقایسه میانگین‌ها، تنش‌شوری باعث افزایش میزان مالون‌دی‌آلدئید در گیاهان تحت تنش شد و کاربرد اسید آسکوربیک اثر تنش را تعدیل نمود و میزان مالون‌دی‌آلدئید را کاهش داد. مقایسه برهمکنش شوری و اسید آسکوربیک نشان داد کمترین غلظت مالون‌دی‌آلدئید در ترکیب تیماری شوری صفر و اسید اسکوربیک ۱، ۳ و ۵ میلی‌مولار مشاهده شد (جدول ۴).

در شرایط تنش شوری، اسید آسکوربیک توانست میزان مالون‌دی‌آلدئید را به طور قابل توجهی کاهش دهد و از آسیب تنش به غشأء سلولی تا حدود زیادی محافظت نماید. نتایج پژوهشی در مورد گیاه کلزا نشان داده که تیمار اسید آسکوربیک باعث کاهش معنی‌دار محتوای مالون‌دی‌آلدئید برگ‌ها و ریشه‌ها می‌شود. همچنین محتوای مالون‌دی‌آلدئید برگ‌ها و ریشه‌ها در گیاهان تیمار شده با شوری توام

با اسید آسکوربیک نسبت به تیمار شوری کاهش یافت (Dolatabadian *et al.*, 2009). پراکسیداسیون چربی‌ها به‌عنوان یک فرآیند متابولیکی طبیعی تحت شرایط عادی نیز صورت می‌پذیرد ولی در شرایط تنشی تشدید می‌شود. پیامد عمل گونه‌های فعال اکسیژن نه تنها آسیب به چربی‌هاست بلکه پروتئین‌ها و دی‌ان‌آ نیز صدمه دیده و در شرایط حاد منجر به مرگ سلولی می‌شوند (Gill and Tuteja, 2010).

غلظت پرولین

باتوجه به نتایج مقایسه میانگین‌ها تنش شوری موجب افزایش میزان پرولین برگ شد. همچنین نتایج نشان داد اسید آسکوربیک میزان پرولین برگ را افزایش داد (جدول ۴). کاربرد اسید آسکوربیک ۵ میلی‌مولار در شرایط بدون تنش منجر به افزایش ۸۸/۰۹ درصدی پرولین برگ نسبت به تیمار بدون کاربرد اسید آسکوربیک شد. در گیاهان تحت تنش شوری، بیشترین میزان پرولین با کاربرد اسید آسکوربیک ۳ و ۵ میلی‌مولار به دست آمد. پرولین برگ در ترکیب تیماری شوری و اسید آسکوربیک ۵ میلی‌مولار با افزایش ۶۰/۵۵ درصدی نسبت به تیمار شوری بدون کاربرد اسید آسکوربیک، به بیشترین میزان خود در این آزمایش رسیده است.

نتایج این پژوهش با نتایج سایر پژوهش‌گران در مورد گیاهان مختلف از جمله پیاز (Khodadadi and Omidbegi, 2002)، سیب‌زمینی (Fidalgo *et al.*, 2001 Heuer and Nadler, 1998)، و خیار (Zhu *et al.*, 2006) هماهنگی دارد. تجمع پرولین در انواع تنش‌های خشکی، شوری و غیره دربسیاری از گیاهان به دلیل افزایش سنتز آن و یا کاهش تخریب آن می‌باشد (Verbruggen and Hermans, 2008). اسید آسکوربیک موجب انباشتگی پرولین در گیاهان می‌شود. این اسید آمینه به‌عنوان منبع ذخیره‌ای از کربن و نیتروژن و نابود کننده رادیکال‌های آزاد عمل می‌کند. پرولین هم چنین به ساختارهای درون سلولی (غشأها و پروتئین‌ها و پتانسیل بافری ردوکس سلولی ثبات می‌بخشد (Chinnusamy *et al.*, 2005).

کلروفیل کل

مقایسه میانگین‌ها نشان داد تنش شوری موجب کاهش میزان کلروفیل کل برگ‌های نشأ فلفل دلمه‌ای شد. با کاربرد اسید آسکوربیک، افزایش در میزان کلروفیل کل به دست آمد. بیشترین میزان کلروفیل کل مربوط به تیمار بدون تنش با کاربرد اسید آسکوربیک ۵ میلی‌مولاربود. در شرایط تنش شوری، کاربرد اسید آسکوربیک موجب افزایش میزان کلروفیل شد به‌طوری‌که تیمار شوری و اسید آسکوربیک ۵ میلی‌مولار نسبت به تیمارشوری بدون کاربرد اسید آسکوربیک ، افزایش ۷۹/۴۳ درصدی در میزان کلروفیل نشان داد (جدول ۴).

کلروفیل برگ یکی از مهم‌ترین شاخص‌های نشان دهنده فشارهای محیطی وارد بر گیاه است. به طوری که مقدار کلروفیل در گیاهان تحت تنش کاهش می‌یابد و باعث تغییر در نسبت جذب نور و در نتیجه کاهش کل جذب نور توسط گیاه می‌شود و این کاهش تا حدی به دلیل کاهش مقدار کلروفیل است. دوام فتوسنتز و حفظ کلروفیل برگ تحت شرایط تنش از جمله شاخص‌های فیزیولوژیکی مقاومت به تنش است (Zarco-Tejada *et al.*, 2000).

پروتئین‌های محلول

نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد میزان پروتئین‌های محلول برگ نشأ فلفل دلمه‌ای تحت شرایط تنش کاهش یافت وکاربرد اسید آسکوربیک در غلظت‌های مختلف در شرایط اعمال تنش با افزایش میزان پروتئین‌های محلول تا حد گیاهان شاهد (بدون شوری) توانست اثرات مخرب تنش را بر مقدار پروتئین‌های محلول کاملاً خنثی کند. مقایسه میانگین ترکیب تیمارها نشان داد بیشترین میزان پروتئین‌های محلول در تیمار بدون تنش و اسید آسکوربیک ۵ میلی‌مولار به‌دست آمد. کاربرد اسید آسکوربیک موجب افزایش ۴۶/۵۷ درصدی میزان پروتئین در ترکیب تیماری شوری و اسید آسکوربیک ۵ میلی‌مولار نسبت به تیمار شوری بدون کاربرد اسید آسکوربیک شد (جدول ۴).

افزایش مقدار پروتئین‌های محلول در گیاهان تحت شوری توام با آسکوربیک اسید در مقایسه با گیاهانی که تنها در معرض تنش شوری قرار داشتند در گیاه کلزا (Dolatabadian *et al.*, 2009) گزارش شده است.

آنزیم‌های‌آنتی‌اکسیدانی

بررسی نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که محلول‌پاشی اسید آسکوربیک به هنگام اعمال تنش‌شوری موجب افزایش میزان آنزیم کاتالاز شده است به طوری‌که ترکیب تیماری شوری و اسید آسکوربیک ۵ میلی‌مولار نسبت به تیمار تنش شوری بدون کاربرد اسید آسکوربیک افزایش ۶۳ درصدی و نسبت به شاهد افزایش ۸۱ درصدی در میزان کاتالاز داشته است (جدول ۴).

در مورد آنزیم پراکسیداز نیز سطح آنزیم در شرایط عدم تنش شوری با کاربرد اسید آسکوربیک افزایش نشان داده است. شرایط تنش موجب کاهش سطح آنزیم پراکسیداز شد و کاربرد اسید آسکوربیک توانست اثرات تنش را بهبود بخشد به گونه‌ای که بالاترین سطح این آنزیم متعلق به ترکیب تیماری شوری به همراه اسید آسکوربیک ۵ میلی‌مولار بود که اسید آسکوربیک در شرایط شوری موجب افزایش ۹۰ درصدی آنزیم پروکسیداز نسبت به شاهد شد.

در شرایط تنش شوری، مقدار پراکسید هیدروژن در سلول‌ها افزایش می‌یابد که کاتالاز یکی از تخصصی‌ترین و اصلی‌ترین آنزیم های پاکسازی‌کننده پراکسید هیدروژن محسوب می‌شود. از طرف دیگر پراکسیدازها می‌توانند به عنوان آنتی‌اکسیدان عمل نمایند. بنابراین، اسید آسکوربیک برای آنزیم آسکوربات پراکسیداز که در تجزیه پراکسید هیدروژن نقش دارد به‌عنوان سوبسترا عمل می‌کند و احتمالا بتواند با تأمین سوبسترای مورد نیاز آنزیم در سم‌زدایی پراکسید هیدروژن نقش ایفا کند (Lee and Kader, 2000).

جدول ۳- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر شوری و اسید آسکوربیک بر صفات فیزیولوژیک نشاء فلفل دلمه‌ای رقم 'کالیفرنیا واندر'

Table 3- ANOVA (mean squares) for the effects of salinity and ascorbic acid treatments on physiological characteristics of *Capsicum annuum* cv. 'California Wonder' seedlings

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی DF	کلروفیل کل Total chlorophyll	پرولین Proline	پروتئین محلول Soluble protein	نشت یونی EC	آنزیم کاتالاز Catalase enzyme	آنزیم پراکسیداز Peroxidase enzyme	مالون دی‌آلدئید malondialdehyde
شوری Salinity (S)	1	25.51**	2.76**	75.19**	406.25**	0.017**	0.007**	25.63**
اسید آسکوربیک Ascorbic acid (A)	3	3.03**	0.86**	11.70*	51.78**	0.002*	0.004**	1.91**
S ×A	3	5.26**	0.91**	16.00**	80.89**	0.003**	0.003**	4.51**
خطا Error	16	0.01	0.02	2.53	6.51	0.001	0.001	0.05
ضریب تغییرات C.V (%)	-	7.37	16.18	12.49	23.98	42.84	20.14	16.02

** و * به‌ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.

** and *: significant at $p \leq 0.01$ and $p \leq 0.05$, respectively.

جدول ٤- اثرات ساده و متقابل شوری و اسید سالیسیلیک بر صفات فیزیولوژیک نشاء فلفل دلمه‌ای رقم 'کالیفرنیا واندر'

Table 4- The simple and interaction effects of salinity and ascorbic acid on physiological characteristics of *Capsicum annuum* cv. 'California Wonder' seedlings

تیمار Treatment	کلروفیل کل Total chlorophyll (mg.g^{-1} Fw)	پرولین Proline (mg.g^{-1} Fw)	پروتئین محلول Soluble protein (mg.g^{-1} Fw)	نشت یونی EC (%)	آنزیم کاتالاز Catalase enzyme (µmol.g^{-1} FW)	آنزیم پراکسیداز Peroxidase enzyme (µmol.g^{-1} FW)	مالون دی آلدئید MAD (µg.g^{-1} FW)
S0	2.80^{a}	0.60^{b}	14.52^{a}	6.52^{b}	0.02^{b}	0.02^{b}	0.41^{b}
S1	0.73^{b}	1.28^{a}	10.98^{b}	14.75^{a}	0.66^{a}	0.06^{a}	2.48^{a}
A0	0.83^{d}	0.64^{c}	10.83^{b}	14.16^{a}	0.03^{b}	0.01^{d}	2.23^{a}
A1	1.67^{c}	0.74^{bc}	12.90^{a}	11.68^{ab}	0.05^{ab}	0.03^{c}	1.45^{b}
A2	2.04^{b}	0.88^{b}	13.12^{a}	9.35^{bc}	0.06^{a}	0.05^{b}	1.17^{bc}
A3	2.52^{a}	1.49^{a}	14.16^{a}	7.36^{c}	0.07^{a}	0.06^{a}	0.93^{c}
A0×S0	1.14^{d}	0.42^{f}	13.05۳^{abc}	9.28^{cde}	0.02^{b}	0.01^{e}	1.09^{d}
A1×S0	2.62^{c}	0.56^{ef}	14.54^{ab}	7.82^{def}	0.03^{b}	0.03^{d}	0.35^{e}
A2×S0	3.16^{b}	0.61^{def}	14.80^{ab}	5.50^{ef}	0.04^{b}	0.03^{d}	0.15^{e}
A3×S0	3.96^{a}	0.79^{cde}	15.71^{a}	3.49^{f}	0.07^{a}	0.04^{cd}	0.06^{e}
A0×S1	0.22^{g}	0.86^{cd}	8.61^{d}	19.04^{a}	0.04^{b}	0.01^{e}	3.37^{a}
A1×S1	0.73^{f}	0.92^{bc}	11.26^{cd}	15.54^{ab}	0.08^{a}	0.04^{c}	2.56^{b}
A2×S1	0.91^{ef}	1.15^{b}	11.44^{cd}	13.20^{bc}	0.09^{a}	0.08^{b}	2.20^{bc}
A3×S1	1.07^{e}	2.18^{a}	12.62^{c}	11.23^{bcd}	0.11^{a}	0.10^{a}	1.80^{c}

حروف مشابه در هر تیمار و ترکیب تیمارها نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد. S_0 و S_1، به ترتیب شوری ۰و ۱۰۰ میلی‌مولار A۰، A۱، A۲ وA۳ به ترتیب اسید آسکوربیک ۰، ۱ ، ۳ و ۵ میلی‌مولار می‌باشد.

The same letters in each treatment and combination indicate no significant difference at the 5% probability level based on Duncan's multiple range test. S0 and S1 are 0 and 100 mM salinity and A0,A1,A2 and A3 are 0, 1, 3 and 5 mM ascorbic acid respectively.

میزان عناصر

بر اساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها، اثر اسید آسکوربیک در سطح احتمال یک درصد بر میزان عناصر سدیم، آهن و روی و در سطح احتمال ۵ درصد بر میزان فسفر نشای فلفل معنی‌دار بود، اما بر میزان پتاسیم معنی‌دار نشد. اثر تنش‌شوری در سطح

احتمال یک درصد بر میزان عناصر پتاسیم، فسفر، سدیم، آهن و روی و بر میزان مس در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد. اثر متقابل اسید آسکوربیک و تنش شوری در سطح احتمال یک درصد بر میزان عناصر پتاسیم، فسفر، سدیم، آهن و روی معنی‌دار شد ولی بر میزان عنصر مس معنی‌دار نبود (جدول ۵).

پتاسیم

نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد بین میزان عنصر پتاسیم در سطوح مختلف اسید آسکوربیک اختلاف معنی‌داری وجود دارد و اسید آسکوربیک در غلظت‌های بالا موجب افزایش جذب عنصر پتاسیم شده است. نتایج مقایسه میانگین‌های ترکیب تیمارها نشان می‌دهد که ترکیب تیماری تنش شوری و غلظت ۵ میلی‌مولار اسید آسکوربیک، گیاه بیشترین جذب پتاسیم را داشته و در کل تیمار با اسید آسکوربیک با افزایش درصد پتاسیم به اندازه گیاهان شاهد توانست خسارت ناشی از تنش شوری را جبران کند (جدول ۶).

فسفر

بر اساس نتایج مقایسه میانگین‌ها در اثرات ترکیبی تیمارها چنین مشاهده می‌شود که محلول‌پاشی اسید آسکوربیک با رساندن مقدار فسفر به‌اندازه گیاهان شاهد، از خسارت تنش‌شوری جلوگیری کرد به‌گونه‌ای که بیشترین مقدار فسفر مربوط به ترکیب تیماری اسید آسکوربیک ۵ میلی‌مولار به همراه تنش شوری بود که با اختلاف ۳۸/۷۱ درصد در مقایسه با تیمار شوری و عدم کاربرد اسید آسکوربیک قرار داشت (جدول ۶).

سدیم

طبق نتایج مقایسه میانگین‌های اثرات ترکیب تیمارها برای عنصر سدیم مشاهده می‌شود که در ترکیب تیماری شوری بدون کاربرد اسید آسکوربیک بالاترین میزان سدیم مشاهده شد ولی در ترکیب تیماری تنش شوری و اسید آسکوربیک ۵ میلی‌مولار، میزان سدیم به اندازه گیاه شاهد است و این بیانگر نقش مؤثر اسید آسکوربیک در کاهش جذب سدیم در شرایط تنش شوری می‌باشد (جدول ۶).

آهن

بررسی اثرات ترکیبی تنش و اسید آسکوربیک نشان می‌دهد بیشترین میزان جذب آهن در شرایط بدون تنش شوری مربوط به ترکیب تیماری عدم تنش و کاربرد ۵ میلی‌مولار اسید آسکوربیک بوده است که در مقایسه با شاهد افزایش ۲۲/۰۶ درصدی داشته است، همچنین ترکیب تیمار تنش شوری و اسید آسکوربیک ۵ میلی‌مولار افزایش ۲۷/۴۷ درصدی در میزان جذب آهن نسبت به تیمار شوری و عدم کاربرد اسید آسکوربیک داشته است که نشان می‌دهد اسید آسکوربیک توانسته اثرات شوری را در کاهش جذب آهن کاملا برطرف نماید (جدول ۶).

روی

نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد تیمار با اسید آسکوربیک در شرایط تنش شوری توانست جذب روی را به اندازه گیاهان در شرایط عدم تنش، افزایش دهد و خسارت ناشی از تنش شوری را جبران کند. بیشترین میزان روی در تیمار عدم تنش و کاربرد اسید آسکوربیک ۵ میلی‌مولار به دست آمد. در شرایط تنش شوری نیز کمترین میزان جذب روی مربوط به تیمار تنش شوری ۱۰۰ میلی‌مولار و عدم کاربرد اسید آسکوربیک است که با کاربرد اسید آسکوربیک افزایش یافته است و در سطوح ۳ و ۵ میلی‌مولار به بیشترین مقدار جذب روی رسیده است (جدول ۶).

مس

بر اساس نتایج مقایسه میانگین‌ها کاربرد اسید اسکوربیک توانست میزان جذب عنصر مس را افزایش دهد اگرچه بین غلظت‌های اسید آسکوربیک اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد. در ترکیب تیمارها، کاربرد اسید آسکوربیک ۳ و ۵ میلی‌مولار همراه با تنش شوری توانست با رساندن مقدار مس به اندازه این عنصر در گیاهانی که تحت تنش شوری نبودند خسارت ناشی از تنش را خنثی نمود (جدول ۶).

یکی از اثرات منفی شوری ایجاد مشکل در تغذیه گیاه است که باعث کاهش عملکرد گیاه می‌شود. شوری منجر به افزایش تجمع برخی یون‌های خاص در گیاه می‌شود و بنابراین برخی از عناصر مورد نیاز از دسترس گیاه خارج می‌شوند و در جذب، انتقال و توزیع عناصر غذایی رقابت ایجاد می‌شود (Chartzoulakis *et al.*, 2002).

آنتی‌اکسیدان‌ها نظیر اسید آسکوربیک، سبب افزایش تحمل اسمزی و یا کنترل فرآیندهای مختلف مانند جذب موادغذایی از محلول خاک می‌گردند و در گزینش انتخابی سدیم و پتاسیم در محیط ریشه در شرایط شوری تغییر ایجاد کرده و از این طریق سبب جذب بهتر پتاسیم تحت تنش شوری می‌شوند. تغذیه برگی آنتی‌اکسیدان‌ها سبب کاهش تجمع سدیم و افزایش پتاسیم وکاهش تجمع کلر و سدیم در گندم تحت تنش شوری شد (Farouk, 2011). اسید آسکوربیک اثرات مؤثری روی جذب بسیاری از مواد غذایی در بسیاری از گیاهان آلی دارد. همچنین از طریق افزایش دفع اسیدهای آلی از ریشه به خاک سبب افزایش حلالیت و جذب موادغذایی اطراف ریشه که می‌شود (Smirnoff, 2000).

جدول ۵- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر شوری و اسید آسکوربیک بر میزان عناصر نشاء فلفل دلمه‌ای رقم 'کالیفرنیا واندر'

Table 3- ANOVA (mean squares) for the effects of salinity and ascorbic acid treatments on minerals content of *Capsicum annuum* cv. 'California Wonder' seedlings

منابع تغییرات S.O.V	درجه ازادی DF	پتاسیم K	فسفر P	سدیم Na	آهن Fe	روی Zn	مس Cu
شوری Salinity (S)	**1**	**0.07^{ns}**	**0.003***	**0.08****	**32.90****	**216.60****	**26.04^{ns}**
اسید آسکوربیک Ascorbic acid (A)	3	0.49**	0.007**	0.01**	3.52**	29.14**	1264.37*
S ×A	3	0.37**	0.006**	0.02**	6.65**	43.46**	646.99^{ns}
خطا Error	16	0.03	0.001	0.002	0.13	4.98	349.12
ضریب تغییرات C.V (%)	-	4.82	6.74	9.63	2.19	4.81	6.79

ns، ** و * به ترتیب عدم معنی‌داری، معنی‌داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد. S: شوری، A: اسید آسکوربیک

^{ns}, ** and *: non-significant, significant at $p\leq0.01$ and $p\leq0.05$, respectively. S: Salinity, A: Ascorbic acid

جدول ٦- اثرات ساده و متقابل شوری و اسید سالیسیلیک بر میزان عناصر نشاء فلفل دلمه‌ای رقم 'کالیفرنیا واندر'

Table 4- The simple and interaction effects of salinity and ascorbic acid on minerals content of *Capsicum annuum* cv. 'California Wonder' seedlings

تیمار Treatment	K (%)	P (%)	Na (%)	Fe (ppm)	Zn (ppm)	Cu (ppm)
S0	3.88^{a}	0.36^{a}	0.20^{b}	17.84^{a}	49.36^{a}	273.91^{a}
S1	3.99^{a}	0.34^{b}	0.32^{a}	15.50^{b}	43.35^{b}	276.00^{a}
A0	3.54^{c}	0.31^{c}	0.19^{c}	15.83^{d}	48.90^{c}	258.83^{b}
A1	3.92^{b}	0.35^{b}	0.25^{b}	16.33^{c}	47.06^{cb}	267.33^{ab}
A2	4.07^{ab}	0.37^{ab}	0.39^{a}	16.90^{b}	45.83^{ab}	282.83^{a}
A3	4.21^{a}	0.38^{a}	0.32^{a}	17.68^{a}	43.65^{a}	290.83^{a}
A0×S0	3.69^{cd}	0.31^{d}	0.26^{cd}	15.86^{d}	44.06^{cd}	259.00^{b}
A1×S0	4.04^{bc}	0.34^{cd}	0.24^{de}	15.76^{d}	43.93^{cd}	274.33^{ab}
A2×S0	3.92^{bc}	0.37^{cd}	0.20٠^{e}	16.56^{cd}	45.93^{bc}	279.33^{ab}
A3×S0	3.86^{c}	0.33^{bc}	0.11^{f}	19.36^{a}	51.86^{a}	283.00^{ab}
A0×S1	3.40^{d}	0.30^{d}	0.37^{a}	14.80^{e}	40.50^{d}	258.67^{b}
A1×S1	3.79^{c}	0.32^{d}	0.33^{ab}	16.03^{cd}	45.93^{bc}	260.33^{b}
A2×S1	$4.21^{۴b}$	0.41^{ab}	0.20^{bc}	17.10^{c}	46.80^{ab}	286.33^{ab}
A3×S1	4.57^{a}	0.43^{a}	0.28^{cd}	18.86^{b}	50.06^{ab}	298.67^{a}

حروف مشابه در هر تیمار و ترکیب تیمارها نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد. S۰ و S۱، به ترتیب شوری ۰و ۱۰۰ میلی‌مولار A۰، A۱، A۲ وA۳ به ترتیب اسید آسکوربیک ۰، ۱ ، ۳ و ۵ میلی‌مولار می‌باشد.

The same letters in each treatment and combination indicate no significant difference at the 5% probability level based on Duncan's multiple range test. S0 and S1 are 0 and 100 mM salinity and A0,A1,A2 and A3 are 0, 1, 3 and 5 mM ascorbic acid respectively.

نتیجه‌گیری

در تحقیق حاضر استفاده از اسید آسکوربیک توانست بـا تعـدیل اثرات تنش شوری، بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیک و جذب عناصر توسط نشای فلفل دلمه‌ای را بهبود بخشیده و در نتیجه رشـد گیـاه را معادل شرایط بدون تنش نماید. با توجه به نتایج بدسـت آمـده از ایـن تحقیق می‌توان استفاده از اسید آسکوربیک باغلظت ۵ میکرو مولار را جهت تعدیل اثرات آبیاری با آب شور در پرورش نشای فلفل دلمـه‌ای توصیه نمود.

منابع

1. Abedi, M.J., Nirizi, S., Ebrahimi, N., Mahrani, M., & Khaledi, H. (2002). Use of saline water in sustainable agriculture. *Publications of the National Committee for Irrigation and Drainage*, *49*, 235 p. (In Persian)
2. Aebi, H. (1984). *Catalase in vitro*. In Methods in enzymology. Academic Press. *105*, 121-126. https://doi.org/10.1016/s0076-6879(84)05016-3
3. Agami, R.A. (2014). Applications of ascorbic acid or proline increase resistance to salt stress in barley seedlings. *Biologia Plantarum*, *58*, 341-347.

4. Bates, L.S., Waldren, R.P., & Teare, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, *39*(1), 205-207.
5. Bradford, 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*, 248-254. https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3
6. Chartzoulakis, K., Loupassaki, M., Bertaki, M., & Androulakis, I. (2002). Effects of NaCl salinity on growth, ion content and CO_2 assimilation rate of six olive cultivars. *Scientia Horticulturae*, *96*(1-4), 235-247. https://doi.org/10.1016/S0304-4238(02)00067-5
7. Chinnusamy, V., Jagendorf, A., & Zhu, J.K. (2005). Understanding and improving salt tolerance in plants. *Crop Science*, *45*, 437–448. https://doi.org/10.2135/cropsci2005.0437
8. Conklin, P.L. (2001). Recent advances in the role and biosynthesis of ascorbic acid in plants. *Plant, Cell and Environment*, *24*(4), 383-394. https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2001.00686.x
9. Dolatabadian, A., Sanavy, S.M., & Chashmi, N.A. (2009). The effects of foliar application of ascorbic acid (vitamin C) on antioxidant enzymes activities, lipid peroxidation and proline accumulation of canola (*Brassica napus* L.) under conditions of salt stress. *Journal of Agronomy and Crop Science*, *194*(3), 206-213. http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-037X.2008.00301.x
10. Farouk, S. (2011). Ascorbic acid and α-tocopherol minimize salt-induced wheat leaf senescence. *Journal of Stress Physiology and Biochemistry*, *7*(3), 58-79.
11. Fidalgo, F., Santos, A., Santos, I., & Salema, R. (2004). Effects of long-term salt stress on antioxidant defence systems, leaf water relations and chloroplast ultrastructure of potato plants. *Annals of Applied Biology*, *145*(2), 185-192. https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2004.tb00374.x
12. Gill, S., & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, *48*(12), 909-930. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016
13. Heath, R.L., & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, *125*(1), 189-198. https://doi.org/10.1016/0003-9861(68)90654-1
14. Herzog, V., & Fahimi, H. (1973). Determination of the activity peroxidase. *Annual Review of Biochemistry*, *55*, 554-562.
15. Heuer, B., & Nadler, A. (1998). Physiological response of potato plants to soil salinity and water deficit. *Plant Science*, *137*(1), 43-51.
16. Khan, H.A., Pervez, M.A., Ayub, C.M., Ziaf, K., Balal, R.M., Shahid, M.A., & Akhtar, N. (2009). Hormonal priming alleviates salt stress in hot pepper (*Capsicum annuum* L.). *Soil and Environment*, *28*(2), 130-135.
17. Khodadadi, M., & Omidbegi, R. (2002). Effects of salinity on growth, leaf water potential and proline content of two edible onion cultivars (*Allium cepa* L.). *Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources*, *4*, 71-83. (In Persian with English abstract)
18. Lee, S.K., & Kader, A.A. (2000). Preharvest and post harvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest Biology and Technology*, *20*, 207-220. http://dx.doi.org/10.1016/S0925-5214(00)00133-2
19. Lutts, S., Kinet, J.M., & Bouharmont, J. (1996). NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Annals Botany*, *78*, 389–398.
20. Marcelina, K.M., Beata, S., Dominik, O., Maja, S., & Justyna, P. (2015). Effect of ascorbic acid on morphological and biochemical parameters in tomato seedling exposure to salt stress. *Environmental Protection And Natural Resources*, *2*(64), 21-25. http://dx.doi.org/10.1515/oszn-2015-0007
21. Mir Mohammad Mobidi, S.M., & Qarah Yazdi, B. (2002). *Physiological and breeding aspects of plant salinity stress*. Isfahan University of Technology Publications. First edition 288pp. (In Persian)
22. Mostofi, U., & Najafi, F. (2005). *Laboratory manual of analytical techniques in horticulture*. University of Tehran Press. 136pp. (In Persian)
23. Nawaz, K., & Ashraf, M. (2010). Exogenous application of glycinebetaine modulates activities of antioxidants in maize plants subjected to salt stress. *Journal of Agronomy and Crop Science*, *196*, 28-37.
24. Sajid, Z.A., & Aftab, F. (2009). Amelioration of salinity tolerance in *Solanum tuberosum* L. by exogenous application of ascorbic acid. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, *45*(5), 540. http://dx.doi.org/10.1007/s11627-009-9252-4
25. Shalata, A., & Neumann, P.M. (2001). Exogenous ascorbic acid (vitamin C) increases resistance to salt stress and reduces lipid peroxidation. *Journal of Experimental Botany*, *52*(364): 2207-2211. https://doi.org/10.1093/jexbot/52.364.2207
26. Shayesteh, N., Golchin, A., & Shafiee, S. (2011). The effects of irrigation water salinity, nitrogen and calcium chloride foliar application on yield and growth indices of pepper plant (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Agricultural Science*, *34*, 2-16. (In Persian with English abstract)
27. Smirnoff, N. (2000). Ascorbic acid: metabolism and functions of a multi-facetted molecule. *Current Opinion in Plant Biology*, *3*(3), 229-235. https://doi.org/10.1016/S1369-5266(00)80070-9

28. Stevens, J., Senaratna, T., & Sivasithamparam, K. (2006). Salicylic acid induces salinity tolerance in tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Roma): associated changes in gas exchange, water relations and membrane stabilization. *Plant Growth Regulation*, *49*(1), 77-83. http://dx.doi.org/10.1007/s10725-006-0019-1
29. Tabatabayan, J. (2014). Study of the effect of calcium in improving the damage caused by salinity stress in tomato plants. *Journal of Production Research*, *21*(2), 137-125. (In Persian with English abstract)
30. Verbruggen, N., & Hermans, C. (2008). Proline accumulation in plants: a review. *Amino Acids, 35*(4), 753-759. https://doi.org/10.1007/s00726-008-0061-6
31. Yang, C.M., Chang, K.W., Yin, M.H., & Huang, H.M. (1998). Methods for the determination of the chlorophylls and their derivatives. *Taiwania*, *43*, 116-122.
32. Zarco-Tejada, P.J., Miller, J.R., Mohammed, G.H., & Noland, T.L. (2000). Chlorophyll fluorescence effects on vegetation apparent reflectance: I. Leaf-level measurements and model simulation. *Remote Sensing of Environment*, *74*(3), 582-595.
33. Zhu, J., Bie, Z., & Li, Y. (2008). Physiological and growth responses of two different salt-sensitive cucumber cultivars to NaCl stress. *Soil Science and Plant Nutrition*, *54*, 400-407. http://dx.doi.org/10.1111/j.1747-0765.2008.00245.x

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

Research Article
Vol. 37, No. 2, Summer 2023, p. 509-522

Investigating Nano-Titanium Dioxide on the Morphological and Biochemical Characteristics of Some Strawberry Cultivars under Hydroponic Cultivation Conditions

F. Javan[1], Y. Selahvarzi[2*], M. Kamali[3]

Received: 01-07-2022
Revised: 13-11-2022
Accepted: 03-12-2022
Available Online: 06-12-2022

How to cite this article:
Javan, F., Selahvarzi, Y., & Kamali, M. (2023). Investigating nano-titanium dioxide on the morphological and biochemical characteristics of some strawberry cultivars under hydroponic cultivation conditions. *Journal of Horticultural Science, 37*(2), 509-522. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jhs.2022.77464.1183

Introduction

Today, in the commercial production of strawberries, short day cultivars are used due to having large fruits of desirable quality .Among the short day cultivars available in Iranare Camarosa, Atabaki, Gaviota, Queen Aliza, Paros and McDonance, which can be cultivated at greenhouse. Titanium dioxide (TiO_2) nanoparticles are one of the metal oxides that exist in three forms of rutile, brookite and anatase, which affect growth, enzymatic activity and photosynthesis. Reported titanium nano dioxide in the highest concentration used (11.5 mg/l) increases fruit formation percentage, leaf chlorophyll content, vitamin C content, fruit ripening index, fresh and dry weight of roots and shoots and yield of strawberries. In another study, it was shown that titanium dioxide treatment under drought stress can increase photosynthetic pigments, total soluble solids, vitamin C, phenol, flavonoid, anthocyanin, and antioxidant activity, and it also improved plant performance. increase the strawberry cultivar Ventana compared to the control treatment. In a research found that spraying titanium increases the biomass, fertility and quality of peach fruit. It has alsow been showed that the pomegranate size of flowers and fruits increased with using titanium nano dioxide, and this can increase the quantity and quality of Alberta peach cultivar. Foliar application of titanium nano dioxide in cucumber has been reported to increase photosynthesis and phenolic content and reduce lipid peroxidation. In a research, it was shown that titanium dioxide nanoparticles increased photosynthesis rate, water conductivity and transpiration rate in tomato leaves. Despite the effect of titanium dioxide nanoparticles on the quantitative and qualitative improvement of some agricultural products, the researches conducted on strawberry plants were not complete or were only conducted on a specific variety. Therefore, with the aim of investigating and comparing the morphological and biochemical traits of some commercial strawberry cultivars under the effect of foliar spraying with titaniumdioxide, the above research was conducted.

Materials and Methods

This research was conducted to investigate the effect of nano titanium dioxide foliar spraying on four strawberry cultivars in the hydroponic greenhouse of the Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad in 2020-2021. Experimental treatments included 4 levels of titanium nano dioxide (0, 5, 10 and 20 mg/l) and 4 strawberry cultivars (Sabrina, Paros, Gaviota and Camarosa) with 4 replications. The research was done in a factorial manner based on a completely random design. JMP 8 software was used to perform variance analysis and compare the averages of the measured traits. Means were compared using Tukey test at 5% probability level and graphs were drawn using Excel 2010 software.

1, 2 and 3- M.Sc. Graduated, Assistant Professor and Ph.D. Graduated, Department of Horticultural Science and Landscape, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: selahvarzi@um.ac.ir)
DOI: 10.22067/jhs.2022.77464.1183

Results and Discussion

According to the tables of mutual effects of titanium dioxide nano treatments and varieties, it can be found that the application of titanium dioxide nanoparticles had a positive effect on the desired characteristics in all four studied strawberry varieties. So that the application of different levels of titanium dioxide nano particles causes a significant increase in quantitative traits (number of leaves, leaf area, root length, fresh and dry weight of aerial and root parts, photosynthetic pigments) The yield-dependent traits compared to the control plants were found in strawberry-strawberry cultivars. Nano titanium dioxide had an effect in increasing the number of fruits and vegetative traits of all investigated cultivars, in such a way that, on the one hand, with a balanced increase in vegetative growth, and on the other hand, improving the efficiency of photosynthesis and absorption through the roots and increasing the percentage of fruit formation. , increased the yield per plant. Also, sprinkling of titanium nanoparticles on all levels caused a significant increase in juice pH, TSS, TA, vitamin C, anthocyanin, total phenol, flavonoid and in general qualitative traits compared to the control. In the treatment of nano titanium dioxide, especially at the level of 10 mg/liter, better results were observed.

Conclusion

According to the results, the use of Paros and Gaviota cultivars is recommended to farmers and agricultural researchers due to its high yield and good quality.

Keywords: Amount of soluble solids, Antioxidants, Cultivars, Leaf area, Number of fruits

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

مقاله پژوهشی
جلد ۳۷، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۲، ص. ۵۲۲-۵۰۹

بررسی نانو دی‌اکسید تیتانیوم بر ویژگی‌های مورفولوژیک و بیوشیمیایی برخی از رقم‌های توت‌فرنگی در شرایط کشت هیدروپونیک

فاطمه جوان[1]- یحیی سلاح ورزی[2]*- مریم کمالی[3]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۴/۱۰
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۸/۲۲
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۹/۱۲

چکیده

توت‌فرنگی به دلیل عطر، طعم و دارا بودن ارزش غذایی بالا جایگاه خود را در رژیم غذایی میلیون‌ها نفر در جهان پیدا کرده است. امروزه عواملی از قبیل تغیرات آب و هوایی، محدود شدن منابع آب و خاک، افزایش آلودگی محیط زیست، مشکلاتی در زمینه کشاورزی و تولید غذای کافی و سالم به وجود آورده است. از این رو دانشمندان برای غلبه بر این مشکلات ابزارهای گوناگونی به کار می‌برند که از آن جمله می‌توان به فناوری نانو اشاره نمود. به همین منظور پژوهشی برای بررسی تأثیر محلول‌پاشی نانو دی‌اکسید تیتانیوم بر برخی ویژگی‌های مورفولوژیک و بیوشیمیایی در چهار رقم توت‌فرنگی در گلخانه هیدروپونیک گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در سال ۱۴۰۰-۱۳۹۹ اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل چهار سطح نانو دی‌اکسید تیتانیوم (صفر، ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر) و چهار رقم توت‌فرنگی (’سابرینا‘، ’پاروس‘، ’گاویوتا‘ و ’کاماروسا‘) بود. آزمایش به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. نتایج نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین ارقام مورد مطالعه از نظر صفات مورد بررسی وجود داشت. در سطح ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو دی‌اکسید تیتانیوم تعداد میوه در ارقام ’سابرینا‘ (۱/۷۲)، ’پاروس‘ (۲/۰۳)، ’گاویوتا‘ (۲/۵۹) و ’کاماروسا‘ (۱/۶۵) برابر نسبت به تیمار شاهد و سطح برگ بوته در ارقام’سابرینا‘ (۱۰/۱ درصد)، ’پاروس‘ (۱۹/۸ درصد)، ’گاویوتا‘ (۲۲/۳ درصد) و ’کاماروسا‘ (۶/۱ درصد) نسبت به تیمار شاهد و وزن خشک بخش هوایی در ارقام’سابرینا‘ (۲۳/۷ درصد)، ’پاروس‘ (۱۸/۸ درصد)، ’گاویوتا‘ (۲۶/۶ درصد) و ’کاماروسا‘ (۲۱/۵ درصد) نسبت به تیمار شاهد و طول رانر در ارقام ’پاروس‘ (۵۱ درصد) و ’گاویوتا‘ (۴۲/۹ درصد) نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت. هم چنین در سطح ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو دی‌اکسید تیتانیوم بیشترین میزان وزن خشک ریشه (۸ گرم) و طول ریشه (۳۰/۱ سانتی‌متر) در رقم ’گاویوتا‘ و طول رانر (۱۶۶/۲ سانتی‌متر) در رقم ’پاروس‘ بدست آمد. بیشترین میزان pH آبمیوه در رقم ’گاویوتا‘ (۳/۹۷)، اسیدیته قابل تیتراسیون در رقم ’کاماروسا‘ (۳/۴ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم وزن تازه برگ)، مواد جامد محلول در رقم ’کاماروسا‘ (۹/۵ درجه بریکس) و آنتی‌اکسیدان در رقم ’سابرینا‘ (۹۰/۹ درصد) در سطح ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو دی‌اکسید تیتانیوم بدست آمد. بر اساس نتایج بدست آمده ارقام ’گاویوتا‘ و ’پاروس‘ نسبت به دو رقم دیگر، از کارایی و عملکرد بهتری برخوردار بودند.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، تعداد میوه، رقم، سطح برگ، میزان مواد جامد محلول

۱، ۲ و ۳- فارغ التحصیل کارشناسی ارشد علوم باغبانی، استادیار و فارغ التحصیل دکتری گروه علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(*- نویسنده مسئول: Email: Selahvarzi@um.ac.ir)

DOI: 10.22067/jhs.2022.77464.1183

مقدمه

توت‌فرنگی (*Fragaria×ananassa* Duch) از خانواده گلسرخیان[1] بوده و به دلیل طعم و ظاهر زیبا و داشتن اثرات مفید برای سلامتی، یکی از محبوب ترین محصولات در سراسر جهان است و به‌صورت تازه‌خوری یا فرآوری‌شده مورد استفاده قرار می‌گیرد (Hossain *et al*., 2019؛Todeschini *et al*., 2018). امروزه در تولید تجاری توت‌فرنگی، از ارقام روز کوتاه به دلیل داشتن میوه‌های درشت با کیفیت مطلوب استفاده می‌شود (Galili Marandi, 2007) . از ارقام روز کوتاه موجود در ایران می‌توان به 'کاماروسا' ، 'آتابکی'، 'گاویوتا'، 'کوئین‌الیزا'، 'پاروس' و 'مکدونانس' اشاره کرد که به صورت گلخانه‌ای قابل کشت است (Asadi Gharneh *et al*., 2014). پرورش گیاهان توت‌فرنگی در گلخانه روشی است که از آسیب‌های ناشی از ناهنجاری‌های طبیعی جلوگیری می کند و امکان تولید خارج از فصل و کشت بدون خاک را نیز فراهم می‌آورد (Tang *et al*., 2020). عملکرد بالا، کاهش مشکلات مربوط به آفات و در دسترس بودن دائم عناصر غذایی برای ریشه گیاه از جمله مزیت‌های کشت هیدروپونیک می‌باشند (Jung *et al*., 2015). فناوری نانو یک روش علمی جدیدی است که با استفاده از مواد و تجهیزات و دستکاری ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی مواد در سطح مولکولی می‌توان محصولات و خدمات مورد استفاده در زمینه‌های متنوع از پزشکی تا کشاورزی را گسترش داد (Siddiqi and Husen, 2016, 2017). نانو ذره دی اکسید تیتانیوم[2] یکی از اکسیدهای فلزی می‌باشد که به سه شکل روتایل، بروکیت و آناتاز وجود دارد که بر رشد، فعالیت آنزیمی و فتوسنتزی تأثیرگذار است (Li *et al*., 2015).

گزارش شده نانو دی اکسید تیتانیوم در بالاترین غلظت استفاده شده (۱۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر) باعث افزایش درصد تشکیل میوه، میزان کلروفیل برگ، میزان ویتامین ث، شاخص رسیدگی میوه، وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی و میزان عملکرد توت‌فرنگی رقم 'کوئین‌الیزا' گردید (Hashemi Dehkourdi *et al*., 2016). در پژوهشی مشخص شد محلول‌پاشی تیتانیوم باعث افزایش زیست‌توده، باروری و کیفیت میوه هلو می‌شود (Alcaraz *et al*., 2004). در پژوهشی دیگر، نشان داده شد که اندازه مادگی گل و میوه با بکارگیری نانو دی‌اکسید تیتانیوم افزایش یافت و همین امر می‌تواند باعث افزایش کمی و کیفی در هلو رقم 'آلبرتا' گردد (Kiafar *et al*., 2019). گزارش شده محلول‌پاشی نانو دی‌اکسید تیتانیوم در خیار، میزان فتوسنتز و محتوای فنولی را افزایش داده و با عث کاهش پراکسیداسیون لیپید شده است (Song *et al*., 2020). نشان داده شده است که تیمار دی اکسید تیتانیوم در شرایط تنش خشکی می‌تواند باعث افزایش رنگدانه‌های فتوسنتزی، مواد جامد محلول کل، ویتامین ث، فنول، فلاونوئید، آنتوسیانین و فعالیت ضد اکسایشی شود و همچنین به خوبی توانست عملکرد گیاه توت‌فرنگی رقم 'ونتانا' را نسبت به تیمار شاهد افزایش دهد (Moradi, 2020). صادقی و حسن پور (Sadeghi and Hasanpour, 2021) در پژوهشی روی توت فرنگی رقم 'سابرینا'، بیان کردند که بیشترین میزان عملکرد، وزن میوه، وزن تر و خشک ریشه و بخش هوایی، همچنین pH، مواد جامد محلول و کاروتنوئید در غلظت ۱۲ میلی‌گرم بر لیتر نانو دی اکسید تیتانیوم بدست آمد. ژنگ و همکاران (Zheng *et al*., 2007) بیان کردند که برخی از نانو ذرات نظیر اکسید تیتانیوم می‌تواند در افزایش کارایی فتوسنتز گیاهان نقش مثبتی داشته باشد چون همانند کلروپلاست دارای قابلیت جذب نور می‌باشد. چانگ و همکاران (Chang *et al*., 2007)، در پژوهشی نشان دادند که با افزایش غلظت نانو ذره تیتانیوم از ۰/۰۰۲ تا ۲۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، میزان بیماری باکتریایی برگ خیار کاهش یافت. در پژوهشی گزارش شده که استفاده از نانو تیتانیوم در بسته‌بندی خرما باعث کاهش معنی‌دار بار میکروبی شامل کپک و مخمر، باکتری‌های مزوفیل هوازی و کلیفرم می شود (Binesh *et al*., 2010). در پژوهشی دیگر با هدف بررسی اثرات متقابل نانوذرات اکسید تیتانیوم و اکسید سلنیوم بر خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گوجه‌فرنگی رقم 'CH - Peto Early' تحت تنش شوری، نشان داده شد که تنش شوری منجر به کاهش کلیه پارامترهای رشدی گیاهان، درصد نسبی آب، محتوای کلروفیل، تجمع عناصر آهن، پتاسیم، تیتانیوم، کلسیم و سلنیوم شد. کاربرد نانوذرات در شرایط تنش به تنهایی و بویژه در ترکیب با یکدیگر اثر شوری را خنثی کردند و خسارت‌های ناشی از تنش شوری را کاهش دادند (Aminizade, 2019). ایلقنیجی و همکاران (Elghniji *et al*., 2014) نتیجه گرفتند که خاصیت فتوکاتالیستی دی‌اکسید تیتانیوم قادر به برطرف کردن خاصیت سمی 4-CP در گوجه فرنگی، پیاز و شلغم آبیاری شده با فاضلاب تحت تابش مستقیم نور آفتاب می باشد. در پژوهشی نشان داده شد که نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم، موجب افزایش سرعت فتوسنتز، هدایت آب و سرعت تعرق در برگ‌های گوجه‌فرنگی گردید (Qi *et al*., 2013). علی رغم تأثیر نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم بر بهبود کمی و کیفی برخی محصولات کشاورزی، پژوهش‌های انجام شده در گیاه توت‌فرنگی کامل نبود یا فقط بر یک رقم خاص انجام شده بود. لذا با هدف بررسی و مقایسه صفات مورفولوژیک و بیوشیمیایی برخی از ارقام تجاری توت‌فرنگی تحت تأثیر محلول‌پاشی با نانو دی اکسید تیتانیوم، پژوهش فوق انجام شد.

1- Rosaceae
2- Titanium dioxide nanoparticle

مواد و روش‌ها

این پژوهش به‌منظور بررسی اثر محلول‌پاشی نانو دی‌اکسید تیتانیوم بر چهار رقم توت‌فرنگی در گلخانه هیدروپونیک گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در سال ۱۴۰۰-۱۳۹۹ اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل ۴ سطح نانو دی‌اکسید تیتانیوم (صفر، ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر) و ۴ رقم توت‌فرنگی (‘سابرینا’[1]، ‘پاروس’[2]، ‘گاویوتا’[3] و ‘کاماروسا’[4]) با ۴ تکرار بود. پژوهش به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی انجام شد. دمای شب و روز گلخانه به ترتیب ۱۷ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۵۶ درصد بود. به منظور انجام پژوهش از چهار رقم توت‌فرنگی که از استان کردستان تهیه شده بودند، استفاده گردید. برای کاهش سطح تبخیر و تنفس در هنگام انتقال و قبل از کشت، برگ‌های توت‌فرنگی به غیر از برگ‌های جوان انتهایی هرس شد و به مدت چند ثانیه ریشه‌هایشان در محلول قارچ‌کش کاپتان + مانکوزب (دو در هزار) قرار گرفت. بعد ازآماده‌سازی، نشاءهای توت‌فرنگی درتاریخ یکم اسفند ماه ۱۳۹۹ در بستر کوکوپیت و پرلیت با نسبت ۶۰:۴۰ در چهار ردیف به تفکیک ارقام، درون کیسه های رشد[5] (به ابعاد ۱۵×۹۰ سانتی‌متر) در گلخانه کاشته شدند. در هر کیسه رشد، تعداد ۸ تا ۹ نشاء توت‌فرنگی کاشته شد. قطر طوقه نشاءهای مورد استفاده در زمان کاشت، ۹ میلی‌متر بود. سپس در هر ردیف، تعداد ۳۲ نشاء و در مجموع ۱۲۸ نشاء استاندارد (نشاءها عاری از بیماری و سالم و از نظر جثه و تعداد برگ یکسان در نظر گرفته شدند) برای انجام آزمایش انتخاب شدند. از محلول غذایی مورگان برای تغذیه گیاهان توت‌فرنگی استفاده شد. برای جلوگیری از رشد جلبک‌ها و خزه ها، مخزن توسط پلاستیک‌های سیاه رنگی پوشش داده شد. قطره چکان‌ها طوری تنظیم شده بود که روزانه ۲۴۰ میلی‌لیتر محلول از آن خارج شود، به طوری که روزی سه بار کودآبیاری (در ساعات ۸، ۱۶ و ۲۴) انجام می‌شد. محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف نانو دی‌اکسید تیتانیوم از یک ماه بعد از انتقال و کاشت نشاء، در مرحله سه الی چهار برگی بوته‌ها هر هفته یکبار (در هفته‌های پنجم، ششم، هفتم و هشتم) و در مجموع ۴ بار انجام گرفت. برای افزایش راندمان جذب عناصر غذایی، محلول‌پاشی در هنگام صبح با استفاده از محلول‌پاش دستی انجام شد. برای پیشگیری از بیماری‌های قارچی بوته‌های توت‌فرنگی، محلول‌پاشی برگی با قارچ‌کش کاربندازیم (دو در هزار) هر دو هفته یک‌بار صورت گرفت. هفته‌ای یک‌بار بسترها با آب مقطر آبشویی شد. طول دوره رشد در پژوهش حاضر، ۴ ماه بوده است و میوه‌ها در مرحله بلوغ تجاری بر اساس شاخص رنگ سطح میوه، یک هفته بعد از آخرین مرتبه محلول‌پاشی، یعنی از هفته اول اردیبهشت تا پایان انجام پژوهش (۱۵ تیرماه ۱۴۰۰) برداشت شدند.

اندازه گیری ویژگی‌های مورفولوژیک و بیوشیمیایی

تعداد میوه‌های کامل و رسیده در طول دوره کشت شمارش و ثبت گردید. پس از توزین میوه‌ها، طول و قطر آن‌ها با استفاده از کولیس دیجیتالی (مدل Mitutoyo) اندازه‌گیری شد. پس از پایان دوره رشد و جمع‌آوری بوته‌ها، برگ‌های هر بوته به طور جداگانه شمارش شده و ثبت گردید. تعداد ساقه‌های رونده[6] هر بوته و تعداد گره‌های مربوط به آن شمارش شد. طول ساقه‌های رونده و فاصله میانگره‌ها به‌وسیله خط کش اندازه‌گیری شدند. هم‌چنین ارتفاع گیاه (با توجه به بوته‌ای بودن توت‌فرنگی، برای اندازه‌گیری ارتفاع گیاه، از ابتدای طوقه تا سطح آخرین برگ محاسبه شد) و طول ریشه نیز با استفاده از خط‌کش اندازه گیری شدند.

برای اندازه‌گیری وزن خشک بخش هوایی و ریشه، در پایان آزمایش بوته‌ها را از بستر کشت خارج کرده و به دو قسمت بخش هوایی و ریشه تقسیم نموده و ریشه‌ها را به خوبی شست و شو داده تا مواد زاید از داخل آن خارج گردد. سپس نمونه ها در آونی با دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد تا رسیدن به وزن ثابت خشک شده و پس از خشک شدن، به‌وسیله ترازوی دیجیتال مدل GF-300 با دقت ۰/۰۰۰۱ وزن شدند (Ghasemi *et al.*, 2018). با استفاده از دستگاه سطح برگ‌سنج (Model Li-Cor- 1300, USA)، میزان سطح برگ گیاهان مورد سنجش قرار گرفت.

pH عصاره صاف‌شده میوه با استفاده از دستگاه pH متر مدل Sartorius در دمای اتاق اندازه‌گیری گردید.

برای اندازه‌گیری میزان مواد جامد محلول در میوه (TSS)، ابتدا میوه‌ها با همزن مکانیکی به طور کامل و یکدست مخلوط شدند (حدود ۱۰ میوه برای هر تیمار) تا پوره یکنواخت میوه بدست آید. سپس به وسیله دستگاه رفراکتومتر دستی (ATAGO، ساخت ژاپن) مقدار بریکس نمونه‌ها قرائت شد (Tanada-Palmu and Grosso, 2005).

برای اندازه‌گیری اسید قابل تیتراسیون (TA)، مقدار ۵ میلی‌لیتر از آبمیوه با محلول سود ۰/۳ نرمال تا رسیدن به pH=۸/۲ تیتر شد و از رابطه زیر مقدار اسید کل محاسبه گردید (Ghasemnezhad *et al.*, 2013).

$$\% \text{ Acid (w/v)} = N \times V1 \times Eq.wt / V2 \times 10$$

در این فرمول N: نرمالیته سود، V1: حجم سود مصرفی، V2: حجم نمونه و Eq.wt: وزن مولکولی اسید غالب می‌باشد.

1- ‘Sabrina’
2- ‘Paros’
3- ‘Gaviota’
4- ‘Camarosa’
5- Growbag
6- Runner

برای اندازه‌گیری میزان کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید، ۰/۰۲۵ گرم نمونه برگ را وزن کرده و با ازت مایع پودر شد. سپس در هاون چینی که حاوی ۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد و ۰/۰۲۵ گرم منیزیم بود ساییده و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس میزان جذب آن‌ها در طول موج‌های ۴۷۰، ۶۴۶ و ۶۶۳ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Jenway Model 6305) قرائت گردید و با استفاده از روابط زیر میزان کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید بر حسب میلی‌گرم برگرم وزن تازه برگ بیان گردید (Lichtenthaler, 2001).

$$Chl\ a = [(12.25\times A_{663} - 2.79\times A_{646}) \times V] / [1000\times W]$$

$$Chl\ b = [(21.21\times A_{646} - 5.1\times A_{663}) \times V]/[1000\times W]$$

$$Chl\ (total) = Chl\ a + Chl\ b$$

$$Car = [(1000\times A_{470} - 1.8\times Chl\ a - 85.02\times Chl\ b) /198] / [1000\times W]$$

V = حجم استون مصرفی

W = وزن نمونه برگی مورد استفاده

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره میوه‌ها از طریق ویژگی خنثی کنندگی رادیکال آزاد DPPH (۱و ۱- دی فنیل ۲- پیکریل هیدرازیل) تعیین گردید (Ghasemnezhad *et al*., 2011). مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره آبمیوه به ۹۰۰ میکرولیتر محلول DPPH ۰/۱ میلی‌مولار اضافه گردید. سپس به سرعت به هم زده شد و در دمای اتاق به‌مدت ۳۰ دقیقه در شرایط تاریکی تا رسیدن محلول به حالت یکنواخت نگهداری شد. مقدار جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر (Jenway Model 6305) تعیین و از محلول ترپس به عنوان Blank استفاده گردید.

$$DPPHsc\ (\%) = \{A\ control - A\ sample / A\ control\} \times 100$$

در این فرمول A sample: عدد خوانده شده نمونه توسط دستگاه اسپکتروفتومتر و A control: مقدار جذب (۱ میلی‌لیتر ترپس + ۱ میلی‌لیتر DPPH) می‌باشد و DPPH حل شده در متانول بود.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

تجزیه آماری داده‌ها بر اساس طرح کاملاً تصادفی با هشت تیمار و چهار تکرار انجام شد. برای انجام تجزیه واریانس و مقایسه میانگین های صفات اندازه گیری شده از نرم افزار JMP 8 استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد و رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel 2010 صورت گرفت.

نتایج و بحث

طول، قطر و تعداد میوه

در ارتباط با صفات وابسته به عملکرد اندازه‌گیری شده، استفاده از تیمار نانو دی‌اکسید تیتانیوم منجر به ایجاد تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد شد و اثر متقابل تیمارهای رقم و نانو دی‌اکسید تیتانیوم بر طول، قطر و تعداد میوه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم با افزایش فعالیت احیایی نوری فتوسیستم II، آزادسازی اکسیژن، فعالیت فسفوریلاسیون نوری کلروپلاست، آنزیم روبیسکو و بهبود محتوای برخی از عناصر ضروری در بافت‌های گیاهی، موجب افزایش عملکرد محصولات مختلف می شود (Khater, 2015). همچنین، نانو ذره تیتانیوم میزان تشکیل کلروفیل را افزایش داده و به این ترتیب باعث افزایش فتوسنتز و عملکرد می‌شود (Hong *et al*., 2005؛ Zheng *et al*., 2005). با اعمال تیمار نانو دی اکسید تیتانیوم در سطح محلول‌پاشی ۱۰ میلی گرم بر لیتر در ارقام 'سابرینا'، 'پاروس'، 'گاویوتا' و 'کاماروسا'، به ترتیب تعداد میوه حدود ۱/۷۲، ۲/۰۳ ، ۲/۵۹ و ۱/۶۵ برابر نسبت به شاهد (عدم محلول‌پاشی با محلول دی اکسید تیتانیوم) افزایش یافت (جدول ۳). با توجه به نتایج بدست آمده، ارقام 'گاویوتا' و 'پاروس' نسبت به دو رقم دیگر، عملکرد بهتری داشتند. هاشمی دهکردی و همکاران (Hashemi Dehkourdi *et al*., 2016) در پژوهشی گزارش کردند نانو دی‌اکسید تیتانیوم باعث افزایش درصد تشکیل میوه و میزان عملکرد در توت فرنگی رقم 'کوئین‌الیزا' گردید، که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد.

هر گیاهی جهت تولید میوه بیشتر و دستیابی به عملکرد بالا و رشد بهتر به ذخایر غذایی کافی و رشد رویشی مناسب نیازمند است که این امر با جذب بهینه آب و مواد غذایی ممکن خواهد بود (Eris, 2005؛ Turhan and). استفاده از نانو دی اکسید تیتانیوم باعث افزایش جذب آب و عناصر معدنی توسط ریشه می‌شود و تشکیل اسیدهای آمینه ضروری را افزایش می‌دهد (Mingyu *et al*., 2007). زمانی که جذب آب توسط گیاه افزایش یابد، آب بیشتری وارد میوه می‌شود و چون وزن میوه تابعی از میزان آب موجود در آن است، بنابراین با افزایش جریان آب به سمت میوه، اندازه و وزن آن زیاد خواهد شد. در این پژوهش دو صفت طول و قطر میوه به عنوان معیاری از اندازه میوه در نظر گرفته شد که در سطح محلول‌پاشی ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر، مقدار طول میوه در ارقام 'سابرینا' (۴۵/۳ میلی‌متر)، 'پاروس' (۴۷/۰ میلی‌متر)، 'گاویوتا' (۴۸/۵ میلی‌متر) و 'کاماروسا' (۴۱/۱ میلی‌متر) بدست آمد که بیشترین مقدار مربوط به رقم 'گاویوتا' بود (جدول ۳). با افزایش غلظت محلول پاشی از صفر به ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر، قطر میوه در ارقام 'سابرینا' (۲۰/۶ درصد)، 'پاروس' (۲۷/۴ درصد)، 'گاویوتا' (۲۳/۸ درصد) و 'کاماروسا' (۲۴/۵ درصد) نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت (جدول ۳). کاربرد نانو دی‌اکسید تیتانیوم موجب افزایش طول و قطر میوه شد، که با نتایج آلکاراز و همکاران (Alcaraz *et al*., 2004) با محلول‌پاشی تیتانیوم روی هلو مطابقت دارد.

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر تیمارهای نانو دی‌اکسید تیتانیوم بر ویژگی‌های رویشی ارقام توت‌فرنگی

Table 1- ANOVA for the effect of titanium dioxide nanoparticle treatments on the vegetative characteristics of strawberry cultivars

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی Df	میانگین مربعات Mean squares						
		طول میوه Fruit length	قطر میوه Fruit diameter	تعداد میوه Fruit number	سطح برگ leaf area	تعداد برگ Leaf number	وزن خشک ریشه Root dry weight	وزن خشک بخش هوایی Shoot dry weight
رقم Cultivar (C)	3	243.90 **	274.67**	609.70**	52599 **	3640.47 **	14.765**	8.455**
نانو دی اکسید تیتانیوم Titanium dioxide nanoparticle (T)	3	298.00 **	322.70**	2808.95**	20933 **	4203.93 **	20.669**	36.083**
C×T	9	3.66 **	66.41**	95.27**	12324**	80.96 *	0.753**	0.095**
خطا Error	48	0.05	4.15	0.26	1546	32.17	0.001	0.005
ضریب تغییرات C.V (%)	-	12.7	16.0	22.1	10.9	26.1	25.2	13.9

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

ns, ** and *: non-significant, significant at $p \leq 0.01$ and $p \leq 0.05$, respectively

تعداد و سطح برگ

اثرمتقابل تیمارهای رقم و نانو دی‌اکسید تیتانیوم، بر تعداد و سطح برگ به ترتیب در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). در سطح محلول‌پاشی ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر، تعداد برگ در ارقام 'سابرینا' (۳۶/۶ درصد)، 'پاروس' (۶۳/۷ درصد)، 'گاویوتا' (۸۷/۰ درصد) و 'کاماروسا' (۳۲/۳ درصد) نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت. یکی از عوامل بسیار مهم در رشد گیاه، سطح برگ می‌باشد و با افزایش سطح برگ به همان نسبت فتوسنتز یا ماده‌سازی افزایش پیدا می‌کند. علاوه بر شکل ساختمانی برگ، حرکت کلروپلاست در داخل سلول‌ها، میزان فشردگی دیواره تیلاکوئید و افزایش غلظت کلروفیل در واحد سطح برگ به جذب حداکثر نور و بالا رفتن میزان فتوسنتز کمک می‌کند (Taiz and zeiger, 2002). گزارش شده که نانو دی‌اکسید تیتانیوم با افزایش جذب موادی مانند نیتروژن و منیزیم، میزان تشکیل کلروفیل و فعالیت آنزیم‌های کلیدی را بالا برده، میزان سطح برگ و نهایتا فتوسنتز را افزایش می‌دهد (Zheng *et al.*, 2005). با افزایش غلظت محلول‌پاشی از صفر به ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر، سطح برگ بوته در ارقام 'سابرینا' (۱۰/۱ درصد)، 'پاروس' (۱۹/۸ درصد)، 'گاویوتا' (۲۲/۳ درصد) و 'کاماروسا' (۶/۱ درصد) نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت (جدول ۳). همانطور که در نتایج جدول ۳ آمده است کاربرد نانو دی‌اکسید تیتانیوم در همه ارقام منجر به افزایش تعداد و سطح برگ شد که نتایج این پژوهش با نتایج (Hokmabadi *et al.*, 2006) در پسته و (Aminizade, 2019) در گوجه فرنگی مطابقت دارد.

تعداد و طول رانر، تعداد گره و فاصله میانگره

تیمار نانو دی‌اکسید تیتانیوم بر تعداد و طول رانر، تعداد گره و فاصله میانگره در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار گردید (جدول ۲) و اثر متقابل تیمارهای رقم و نانو دی‌اکسید تیتانیوم بر طول رانر در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار و بر تعداد رانر، تعداد گره و فاصله میانگره غیر معنی‌دار شد (جدول ۲). نتایج این پژوهش در ارتباط با تعداد رانر با نتایج (Tehrani, 2014) در توت‌فرنگی رقم 'کاماروسا' مطابقت دارد.

ارقام 'گاویوتا' و 'پاروس' نسبت به دو رقم دیگر در مورد صفات ذکر شده نتایج بهتری را نشان دادند، به نحوی که محلول‌پاشی نانو دی‌اکسید تیتانیوم در سطح ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر، طول رانر را در ارقام 'پاروس' (۵۱/۰ درصد) و 'گاویوتا' (۴۲/۹ درصد) نسبت به شاهد افزایش داد و بیشترین میزان طول رانر در سطح محلول‌پاشی ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر در رقم 'پاروس' (۱۶۶/۲سانتی‌متر) بدست آمد (جدول ۳).

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر تیمارهای نانو دی اکسید تیتانیوم بر ویژگی‌های رویشی ارقام توت‌فرنگی

Table 2- ANOVA for the effect of titanium dioxide nanoparticle treatments on the vegetative characteristics of strawberry cultivars

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی Df	میانگین مربعات Mean squares					
		طول ریشه Root length	ارتفاع گیاه Plant height	تعداد رانر Number of runners	طول رانر Runner length	تعداد گره Number of nodes	فاصله میانگره Intermediate distance
رقم Cultivar (C)	3	37.64**	28.506**	14.229**	39659.2 **	100.057**	1678.63**
نانو دی اکسید تیتانیوم Titanium dioxide nanoparticle (T)	3	183.05**	28.361**	12.687 **	8298.5**	85.057**	845.54 **
C×T	9	2.37**	1.256**	0.409 ns	448.8 **	4.376 ns	35.83 ns
خطا Error	48	0.03	0.292	1.479	0.064	3.828	23.79
ضریب تغییرات C.V (%)	-	13.5	7.7	20.2	21.6	24.9	27.1

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

ns, ** and *: non-significant, significant at $p \leq 0.01$ and $p \leq 0.05$, respectively

جدول ۳- اثرات متقابل رقم × نانو دی‌اکسید تیتانیوم بر ویژگی‌های رویشی توت‌فرنگی

Table 3- The mean comparison interactions cultivar and Titanium dioxide nanoparticle on strawberry vegetative characteristics

رقم Cultivar	نانو دی‌اکسید تیتانیوم Titanium dioxide nanoparticle (mg.L^{-1})	طول میوه Fruit length (mm)	قطر میوه Fruit diameter (mm)	تعداد میوه Fruit number	سطح برگ leaf area (cm^2)	تعداد برگ Leaf number	وزن خشک ریشه Root dry weight (g)	وزن خشک بخش هوایی Shoot dry weight (g)	طول رانر Runner length (cm)
	0	36.8j	ef 32.5	26.2 h	5605.1 de	75.0 ef	4.8 g	9.7 h	30.2 m
	5	41.5 f	35.0 de	37.2 e	5691.1 d	82.5 de	5.1 e	10.5 f	38.2 k
'سابرینا'	10	45.3 c	39.2 bcd	45.2 c	6172.3 b	102.5 bc	6.5 c	12.0 c	63.2 i
'Sabrina'	20	36.0k	29.5 fg	19.2 j	5505.5 e	72.7 ef	3.9 i	8.4 j	22.7 o
	0	40.7 g	35.7 cde	28.5 g	5200.1 f	66.7 fg	4.5 h	10.6 f	110.0 e
	5	43.0 d	42.2 ab	41.5 d	5852.2 c	83.7 de	6.0 d	11.1 e	143.7 c
'پاروس'	10	47.0 b	45.5 a	58.0 a	6230.7 b	109.2 ab	7.5 b	12.6 b	166.2 a
'Paros'	20	38.2 i	35.0 de	22.2 i	5129.0 f	64.0 fg	4.0 i	9.0 i	85.0 h
	0	42.3 e	35.7 cde	20.5 j	5215.3 f	64.0 fg	6.0 d	10.5 f	103.1 f
	5	45.0 c	40.7 abc	44.2 c	6167.0 b	89.7 cd	6.5 c	11.5 d	124.2 d
'گاویوتا'	10	48.5 a	44.2 ab	53.2 b	6379.1 a	119.7 a	8.0 a	13.3 a	147.4 b
'Gaviota'	20	40.0 h	32.5 ef	16.0 k	5198.8 f	52.7 gh	5.0 f	9.6 h	90.0 g
	0	33.0 l	28.5 fg	19.7 j	4665.5 h	57.2 gh	4.0 i	9.3 i	26.2 n
	5	37.2 j	31.5 efg	25.2 h	4900.2 g	73.7 ef	4.4 h	9.9 g	32.7 l
'کاماروسا'	10	41.1 fg	35.5 de	32.7 f	4952.0 g	75.7 def	4.8 g	11.3 d	50.7 j
'Camarosa'	20	28.7 m	27.0 g	14.0 l	4293.3 i	47.7 h	3.1 j	8.0 k	19.2 p

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

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

طول ریشه، وزن خشک ریشه و بخش هوایی، ارتفاع گیاه

تیمار نانو دی‌اکسید تیتانیوم اثر معنی‌داری روی وزن خشک ریشه و بخش هوایی داشت (جدول ۱). در سطح محلول‌پاشی ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر، وزن خشک بخش هوایی در ارقام 'سابرینا' (۱/۲۱)، 'پاروس' (۱/۲۳)، 'گاویوتا' (۱/۲۶) و 'کاماروسا' (۱/۱۸) برابر نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت. با توجه به نتایج (جدول ۳) و (جدول ۵) در سطح

۱۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو دی‌اکسید تیتانیوم بیشترین میزان وزن خشک ریشه (۸ گرم) و طول ریشه (۳۰/۱ سانتی‌متر) در رقم ’گاویوتا‘ بدست آمد. نشان داده شده که در توت‌فرنگی رقم ’سابرینا‘، بیشترین وزن خشک ریشه و بخش هوایی در تیمار ۱۲ میلی‌گرم بر لیتر نانو دی‌اکسید تیتانیوم مشاهده گردید (Sadeghi and Hasanpour, 2021) که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. در پژوهشی نشان داده شد که دی اکسید تیتانیوم و دی اکسید سلنیوم به صورت جداگانه در شرایط تنش منجر به افزایش معنی‌دار ۲ و ۱/۵۸ برابری طول ریشه نسبت به شاهد شوری شدند که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد (Aminizade, 2019). گزارش شده، ارتفاع گیاه به شرایط محیطی بسیار حساس می باشد و به‌میزان زیادی به فتوسنتز بستگی دارد (Heschel and Riginos, 2005). در سطح ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر تیمار نانو دی‌اکسید تیتانیوم، ارتفاع گیاه در ارقام ’سابرینا‘ (۷/۳ درصد)، ’پاروس‘ (۱۰/۲ درصد)، ’گاویوتا‘ (۹/۶ درصد) و ’کاماروسا‘ (۹/۰ درصد) نسبت به شاهد کاهش یافت (جدول ۵).

در پژوهشی اعمال تیتانیوم در محلول غذایی از طریق کاهش اثرات سمی عناصر دیگر، باعث افزایش رشد در گیاه گوجه‌فرنگی گردید (Haghighi and Daneshmand, 2012). همچنین گزارش شده است تیتانیوم، فعالیت آهن در کلروپلاست برگ را افزایش داده و در نهایت باعث افزایش جذب مواد غذایی می شود (Alcaraz *et al.*, 2004) و این امر وزن خشک ریشه و اندام هوایی گیاه را افزایش می‌دهد (Yang *et al.*, 2006). زمانی که میزان کلروفیل افزایش پیدا کند، میزان فتوسنتز نیز افزایش یافته و در نهایت منجر به افزایش رشد ریشه و جذب بیشتر عناصر معدنی می‌گردد (Hong *et al.*, 2005).

pH، میزان مواد جامد محلول (TSS)، اسیدیته قابل تیتر (TA) و آنتی‌اکسیدان آبمیوه

اثر متقابل تیمارهای رقم و نانو دی اکسید تیتانیوم بر pH آبمیوه و اسیدیته قابل تیتر در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار، و بر میزان مواد جامد محلول و آنتی‌اکسیدان غیر معنی‌دار بود (جدول ۴). با افزایش غلظت محلول‌پاشی نانو دی‌اکسید تیتانیوم، افزایش معنی‌داری در تمام صفات ذکر شده مشاهده شد. از شاخص‌های مهم کیفی، TSS است که با کیفیت خوراکی میوه در زمان رسیدن رابطه مستقیمی دارد و مصرف‌کننده تمایل زیادی به مصرف میوه با TSS بالا دارد. نتایج پژوهش‌های پیشین نشان دادند که نانو دی‌اکسید تیتانیوم سبب افزایش میزان مواد جامد محلول شدند. افزایش مواد جامد محلول می‌تواند یا ناشی از هیدرولیز ساکارز و تولید فروکتوز و گلوکز و یا آبگیری میوه باشد (Arena and Curvetto, 2008). بنابراین، با توجه به اینکه وزن تر میوه در طول تیمار افزایش یافت، شاید بتوان استنباط کرد که افزایش TSS از هیدرولیز ساکارز بوده است. گزارش شده روی توت‌فرنگی رقم ’سابرینا‘، بیشترین میزان pH و مواد جامد محلول در بالاترین سطح نانو دی‌اکسید تیتانیوم مشاهده گردید (Sadeghi and Hasanpour, 2021) که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. ویژگی مهم در تعیین کیفیت میوه، اسید کل آن می‌باشد و اسیدهای قابل تیتر با غلظت اسیدهای آلی موجود در میوه به طور مستقیم ارتباط دارند (Akhtar *et al.*, 2010) و برای میوه یک منبع اندوخته انرژی می‌باشند که با افزایش سوخت‌وساز در هنگام رسیدن میوه، طی اکسایش اسیدها در چرخه کربس مصرف می‌شوند (Marschner, 2012). یکی دیگر از معیارهای مهم برای ارزیابی کیفیت ارقام، فعالیت آنتی‌اکسیدانی می باشد. آنتی‌اکسیدان‌ها باعث جلوگیری از اکسیداسیون مولکول‌های زیستی سلول‌ها از جمله لیپیدها، DNA ها، پروتئین و کربوهیدرات‌ها می‌شوند (Dar *et al.*, 2015).

بر اساس نتایج (جدول ۵) در سطح ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو دی اکسید تیتانیوم، بیشترین میزان pH آبمیوه در رقم ’گاویوتا‘ (۳/۹۷)، TA در رقم ’کاماروسا‘ (۳/۴ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم وزن تازه برگ) و با توجه به (جدول ۶) بیشترین میزان TSS در رقم ’کاماروسا‘ (۹/۵ درجه بریکس) و آنتی‌اکسیدان (۹۰/۹ درصد) در ’سابرینا‘ بدست آمد.

رنگیزه‌های فتوسنتزی

نتایج تجزیه واریانس نشان می‌دهد که میزان کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید در برگ‌ها در طی مدت تیماردهی افزایش یافت (جدول ۴). به طوری که بیشترین میزان کلروفیل a (۳/۵ میلی‌گرم بر گرم)، b (۲/۸ میلی‌گرم بر گرم)، کل (۶/۴ میلی‌گرم بر گرم) و کاروتنوئید (۲/۲ میلی‌گرم بر گرم) در رقم ’گاویوتا‘ در غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو دی‌اکسید تیتانیوم بدست آمد. در نتایج پژوهشی بیان شد که تأثیر نانو دی‌اکسید تیتانیوم روی ذرت بر محتوای کلروفیل (a و b)، کلروفیل کل، نسبت کلروفیل a به b، کاروتنوئید و آنتوسیانین معنی‌دار بود. در مرحله ظهور گل‌های نر و ماده، بیشترین میزان رنگدانه در مقایسه با شاهد ثبت گردید (Morteza *et al.*, 2013). در پژوهشی دیگر گزارش شده است که نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم از طریق خاصیت فتوکاتالیستی و هدایت حرارتی خود موجب افزایش جذب آب، بهبود جذب نور در کلروفیل a و تحریک به افزایش نرخ تکاملی و تغییر اکسیژن شده، در نتیجه اثرات مفیدی بر فتوسنتز و عملکرد گیاهان دارد (Rezaei *et al.*, 2015).

جدول ٤- تجزیه واریانس اثر تیمارهای نانو دی‌اکسید تیتانیوم بر ویژگی‌های بیوشیمیایی ارقام توت‌فرنگی

Table 4- ANOVA for the effect of titanium dioxide nanoparticle treatments on biochemical characteristics of strawberry cultivars

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی Df	میانگین مربعات Mean squares							
		اسیدیته آبمیوه pH juice	مواد جامد محلول TSS	اسید قابل تیتر Titulable acidity	آنتی اکسیدان Antioxidants	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل کل Total chlorophyll	کاروتنوئید Carotenoids
رقم Cultivar (C)	3	0.579 **	63.292**	6.527**	1452.43**	2.767**	3.484**	12.427**	2.046 **
نانو دی اکسید تیتانیوم Titanium dioxide nanoparticle (T)	3	0.104**	94.145**	9.406**	4136.75 **	6.907**	3.564**	20.376**	2.772 **
C×T	9	0.001**	0.162 ns	0.369**	18.44 ns	0.116**	0.027**	0.238**	0.022**
خطا Error	48	0.0001	0.112	0.010	14.12	0.003	0.0005	0.004	0.0008
ضریب تغییرات C.V (%)		4.8	35.1	48.0	21.2	31.2	35.3	32.6	37.4

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

ns, ** and *: non-significant, significant at $p\leq 0.01$ and $p\leq 0.05$, respectively

جدول ۵- اثرات متقابل رقم × نانو دی‌اکسید تیتانیوم بر ویژگی‌های رویشی و بیوشیمیایی توت‌فرنگی

Table 5- The interaction effect of cultivar × titanium dioxide nanoparticle on strawberry vegetative and biochemical characteristics

رقم Cultivar	نانو دی‌اکسید تیتانیوم Titanium dioxide nanoparticle ($mg.l^{-1}$)	طول ریشه Root length (cm)	ارتفاع گیاه Plant height (cm)	اسیدیته آبمیوه pH juice	اسید قابل تیتر Titulable acidity ($mg.100g^{-1}$ FW)	کلروفیلa Chlorophyll a ($mg.g^{-1}$ FW)	کلروفیل b Chlorophyll b ($mg.g^{-1}$ FW)	کلروفیل کل Total chlorophyll ($mg.g^{-1}$ FW)	کاروتنوئید Carotenoid ($mg.g^{-1}$ FW)
'سابرینا' 'Sabrina'	0	22.0 g	21.9 de	3.74 e	0.4 h	1.6 g	1.2 j	2.9 i	0.8 i
	5	25.2 e	23.4 bc	3.82 d	1.2 ef	2.2 e	1.5 h	3.8 e	1.3 f
	10	27.1 c	24.4 ab	3.88 c	1.9 c	2.5 d	1.8 f	4.3 d	1.5 e
	20	19.0 j	20.3 e	3.92 b	2.6 b	1.4 h	0.9 m	2.3 k	0.6 j
'پاروس' 'Paros'	0	23.1 f	24.5 ab	3.47 k	1.2 f	2.0 f	1.5 h	3.5 f	1.3 f
	5	26.1 d	24.7 ab	3.52 ij	1.9 c	2.7 c	2.0 e	4.7 c	1.5 e
	10	28.5 b	25.3 a	3.57 h	2.4 b	3.1 b	2.2 c	5.3 b	1.8 c
	20	20.0 i	22.0 de	3.69 f	2.9 b	1.5 gh	1.1 k	2.7 j	0.8 i
'گاویوتا' 'Gaviota'	0	26.2 d	21.8 de	3.82 d	0.8 g	2.6 cd	2.1 d	4.8 c	1.6 d
	5	28.2 b	23.7 bc	3.88 c	0.9 g	3.0 b	2.4 b	5.5 b	1.9 b
	10	30.1 a	24.5 ab	3.92 b	1.0 fg	3.5 a	2.8 a	6.4 a	2.2 a
	20	21.1 h	19.7 f	3.97 a	1.6 d	1.6 g	1.5 h	3.2 h	1.1 g
'کاماروسا' 'Camarosa'	0	22.2 g	21.0 e	3.43 l	1.5 de	1.4 h	1.0 l	2.4 k	0.8 i
	5	23.5 f	20.9 e	3.49 jk	2.0 c	2.0 f	1.3 i	3.4 g	1.0 h
	10	26.2 d	22.5 cd	3.54 i	2.8 b	2.5 d	1.7 g	4.2 d	1.3 f
	20	20.1 i	19.1 f	3.65 g	3.4 a	1.1 i	0.6 n	1.8 l	0.4 k

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

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

نانو دی‌اکسـید تیتانیوم موجب افزایش جذب موادی از جمله نیتروژن و منیزیم می‌شـود و میزان تولید کلروفیل را افزایش می‌دهد (Zheng *et al.*, 2007). نانو ذره تیتانیوم از طریق افزایش انرژی نورانی فتوسیستم II که توسط غشاء کلروپلاست جذب می‌شود و باید به فتوسیستم I منتقل شود و سپس با تبدیل انرژی نورانی به انرژی الکترون‌ها، انتقال الکترون‌ها و همچنین با تقویت و توسعه فتولیز آب و آزادسازی اکسیژن، میزان فتوسنتز و عملکرد گیاه را افزایش می‌دهد (Mingyu *et al.*, 2007) و این بدان علت است که نانو دی‌اکسـید تیتانیوم به راحتی واکنش های اکسـایش و احیاء را کاتالیز کرده و موجب تسریع در آزاد شدن الکترون‌های پرانرژی می شود (Yang *et al.*, 2006). پژوهش‌ها نشان می‌دهند که نانو دی‌اکسید تیتانیوم سبب افزایش میزان کاروتنوئیدها می‌گردد. این ذره‌ها به دلیل کوچک بودن و امکان نفوذ بالا، سبب جذب بهتر منیزیم، آهن و گوگرد شده و جذب نور را افزایش داده و تشـکیل رنگدانه ها را تسـهیل می‌نمایند (Mahmoodzadeh *et al.*, 2013). تیمار نانو دی‌اکسـید تیتانیوم باعث افزایش معنی‌دار کلروفیل و کاروتنوئید نسبت به شاهد شد که به ترتیب با نتایج (Moradi, 2020) در توت‌فرنگی رقم 'ونتانا' و (Sadeghi and Hasanpour, 2021) در توت‌فرنگی رقم 'سـابرینا' مطابقت دارد.

جدول ٦- اثرات ساده رقم و نانو دی‌اکسید تیتانیوم بر برخی ویژگی‌های رویشی و بیوشیمیایی توت‌فرنگی

Table 6- The simple effects of cultivar and titanium dioxide nanoparticles on strawberry vegetative and biochemical characteristic

نانو دی‌اکسید تیتانیوم **Titanium dioxide nanoparticle (mg.l-1)**	تعداد رانر **Number of runners**	تعداد گره **Number of nodes**	فاصله میانگره **Intermediate distance (cm)**	مواد جامد محلول **TSS (Brix)**	آنتی اکسیدان **Antioidants (%)**
0	2.06 bc	3.81 c	22.81 b	5.88 d	58.45 d
5	2.81 b	5.75 b	24.88 b	6.48 c	74.68 c
10	3.75 a	8.31 a	31.62 a	7.69 b	86.37 b
20	1.75 c	3.18 c	14.00 c	11.30 a	95.75 a
رقم Cultivar					
سابرینا Sabrina	1.93 b	3.43 b	15.68 b	4.95 c	90.96 a
پاروس Paros	3.68 a	7.06 a	32.25 a	8.35 b	81.22 b
گاویوتا Gaviota	3.06 a	7.75 a	32.07 a	8.55 b	74.07 c
کاماروسا Camarosa	1.68 b	2.81 b	13.31 b	9.50 a	69.00 d

میانگین های دارای حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

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

نتیجه‌گیری

با توجه به جداول اثرات متقابل تیمارهای نانو دی‌اکسید تیتانیوم و رقم، مشـاهده می‌شـود که کاربرد نانو ذرات دی‌اکسـید تیتانیوم تاثیر مثبتی روی خصـوصـیات مورد نظر در هر چهار رقم توت‌فرنگی مورد بررسـی ایجاد کرد. به طوری که اعمال سـطوح مختلف نانو ذره دی‌اکسـید تیتانیوم، باعث افزایش معنی‌دار صـفات کمی (تعداد برگ، سـطح برگ، طول ریشـه، وزن تر و خشـک بخش هوایی و ریشـه، رنگیزه‌های فتوسنتزی و ....) و صفات وابسته به عملکرد نسبت به گیاهان شـاهد در ارقام توت‌فرنگی شـد. نانو دی‌اکسـید تیتانیوم در افزایش تعداد میوه و صفات رویشی همه ارقام مورد بررسی اثر داشت، به گونه‌ای که از یک طرف با افزایش متعادل رشد رویشی و از طرف دیگر بهبود کارایی فتوسنتز و جذب از طریق ریشه و بالا بردن درصد تشکیل میوه، باعث افزایش عملکرد به ازای هر بوته گردید.

همچنین محلول‌پاشی نانو ذرات تیتانیوم در تمام سطوح باعث افزایش معنی‌دار pH آبمیوه، TSS، TA، ویتامین C، آنتوسیانین، فنول کل، فلاونوئید و به طور کلی صفات کیفی در مقایسه با شاهد گردید.

در تیمار نانو دی‌اکسید تیتانیوم به خصوص در سطح ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر نتایج بهتری مشاهده شد. در نهایت بر اساس نتایج بدست آمده ارقام 'گاویوتا' و 'پاروس' نسبت به دو رقم دیگر از کارایی و عملکرد بهتری برخوردار بودند.

منابع

1. Akhtar, A.N., Abbasi, A., & Hussain, A. (2010). Effect of calcium chloride treatments on quality characteristics of loquat fruit during storage. *Pakistan Journal of Botany*, *42*(1), 181-188.
2. Alcaraz, C., Botia, M., Carlos, F., & Fernando, R. (2004). Effect of foliar sprays containing calcium, magnesium and titanium on peach (*Prunus persica* L.) fruit quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *84*(9), 949-954. http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.1703
3. Aminizade bezenjani, S. (2019). *Study of the interaction of nanoparticles of titanium dioxide and selenium dioxide on increasing the resistance of tomato plant under salinity stress*. University of Industrial and Advanced Technology.
4. Arena, M.E., & Curvetto, N.S. (2008). *Berberis buxifolia* fruiting: Kinetic growth behavior and evolution of chemical properties during the fruiting period and different growing seasons. *Scientia Horticulturae*, *118*, 120-127. http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2008.05.039
5. Asadi Gharneh, H., Arzani, K., Shogaeyan, A., Golparvar, A., & Sabbaghnia, N. (2014). Evaluation of genetic diversity in some strawberry (*Fragaria* × *annanasa* Duch.) cultivars in Iran using morphological characteristics. *Plant Productions*, *4*(37), 93-106.
6. Binesh, M., Mortazavi, A., Armin, M., & Moradi, M. (2010). Investigation of the use of titanium dioxide and silver nanocomposites in Mazafati date packaging on its microbial changes during storage. *Journal of Food Science and Technology*, *2*(1), 1-8.
7. Chang, L., Wang, Q., & Mei, H. (2007). Effect of nanoparticles on the bacterial community of the cucumber phyllosphere. *Chinese Journal of Agricultural Biotechnology*, *6*(2), 141-145. http://dx.doi.org/10.1017/S1479236209990179
8. Dar, T.A., Uddin, M., Khan, M.M.A., Hakeem, K.R., & Jaleel, H. (2015). Jasmonates counter plant stress: a review. *Environmental and Experimental Botany*, *115*, 49-57. http://dx.doi.org/10.1016/j.envexpbot.2015.02.010
9. Elghniji, K., Sabrine, S., Ben, Mosbah, M., Elimame, E., & Moussaoui, Y. (2014). Detoxification of 4-chlorophenolin TiO_2 sunlight system: effect of raw and treated solution on seed germination and plants growth of various sensitive vegetables. *Toxicological and Environmental Chemistry*, *96*, 869-879. http://dx.doi.org/10.1080/02772248.2014.983511
10. Galili Marandi, R. (2007). *Tiny fruits*. Urmia University Jihad Publications 2: 240.
11. Ghasemi, K., Emadi, S.M., & Ghasemi, Y. (2018). Effect of different culture media on broccoli (*Brassica oleracea* var. italica) yield components and mineral elements concentration in soilless Culture. *Journal of Horticultural Science 31*(4), 694-704. https://doi.org/10.22067/jhorts4.v31i4.58860
12. Ghasemnezhad, M., Sherafati, M., & Payvast, G.A. (2011). Variation in phenolic compounds, ascorbic acid and antioxidant activity of five coloured bell pepper (*Capsicum annunm*) fruits at two different harvest times. *Journal Scientia Functional Foods*, *3*(1), 44-49. http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2011.02.002
13. Ghasemnezhad, M., Zareh, S., Rassa, M., & Sajedi, R.H. (2013). Effect of chitosan coating on maintenance of aril quality, microbial population and PPO activity of pomegranate (*Punica granatum* L. cv. Tarom) at cold storage temperature. *Journal Science of Food Agriculture*, *93*(2), 368-374. http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.5770
14. Haghighi, M., & Daneshmand, B. (2012). Comparison of titanium and titanium nanoparticles on growth and photosynthesis of tomato in hydroponic system. *Science and Technology of Greenhouse Cultures*, *4*(13), 73-79. (In persian).
15. Hashemi Dehkourdi, E., Mousavi, M., Moallemi, N., & Ghafariyan moghareb, M.H. (2016). Effect of nanoparticles of titanium dioxide (anatase) on physiological characteristics of strawberry (*Fragaria ananassa* cv. Queen Elisa) in hydroponic condition. *Journal of Plant Process and Function*, *5*(16), 1-8. (In Persian with English abstract)
16. Heschel, M.S., & Riginos, C. (2005). Mechanism of selection for drought stress tolerance and avoidance in Impatiens capensis (Balsaminaceae). *American Journal of Botany*, *92*, 37-44. https://doi.org/10.3732/ajb.92.1.37
17. Hokmabadi, H., Haidarinezad, A., Barfeie, R., Nazaran, M., Ashtian, M., & Abotalebi, A. (2006). *A new iron chelate introduction and their effects on photosynthesis activity chlorophyll content and nutrients uptake of pistachio* (*Pistacia vera* L.). International Horticultural Congress and Exhibition. Seoul, Korea. August, 13-19. http://dx.doi.org/10.17660/ActaHortic.2007.741.19
18. Hong, F., Yang, P., Gao, F., Liu, C., Zheng, L., Yang, F., & Zhou, J. (2005). Effect of nano-TiO_2 on spectral characterization of photosystem II particles from spinach. *Chemical Research in Chinese Universities*, *21*(2), 196–200.
19. Hossain, M.R., Natarajan, S., Kim, H.T., Jesse, D.M.I., Lee, C.G., Park, J.I., & Nou, I.S. (2019). High density linkage map construction and QTL mapping for runner production in allo-octoploid strawberry *Fragaria* × *ananassa* based on ddRAD-seq derived SNPs. *Scientific Reports*, *9*, 1-11. https://doi.org/10.1038/s41598-019-39808-9

20. Jung, D.H., Kim, H.J., Choi, G.L., Ahn, T.I., Son, J.E., & Sudduth, K.A. (2015). Automated lettuce nutrient solution management using an array of ion-selective electrodes. *Transactions of the ASABE*, *58*(5), 1309-1319. http://dx.doi.org/10.13031/trans.58.11228
21. Khater, M.S. (2015). Effect of titanium nanoparticles (TiO_2) on growth, yield and chemical constituents of coriander plants. *Arab Journal of Nuclear Science and Applications*, *48*(4), 187-194.
22. Kiafar, H., Mosavi, M., Ebadi, A., Moallemi, N., & Fattahi Moghaddam, M.R. (2019). *Effect of Titanium Dioxide Nanoparticles on flower and fruit characteristics of early peach Alberta cultivar*. 11th Iranian Congress of Horticultural Sciences, 11: 1-5.
23. Li , J., Naeem, M.S., Wang, X., Liu, L., Chen, C., Ma, N., & Zhang, C. (2015). Nano- TiO_2 is not phytotoxicas revealed by the oilseed rape growth and photosynthetic apparatus ultra-structural response. *PLOS One*, *10*(12), p.e0143885. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0143885
24. Lichtenthaler, H.K., & Buschmann, C. (2001). Extraction of photosynthetic tissues: chlorophylls and carotenoids. *Food Analytical Chemistry*, F4. 2.1- F4. 2.6.
25. Mahmoodzadeh, H., Aghili, R., & Nabavi, M. (2013). Physiological effects of TiO_2 nanoparticles on wheat (*Triticum aestivum*). *Journal of Engineering and Applied Science*, *3*(14), 1365-1370.
26. Marschner, P. (2012). *Marschner, s mineral nutrition of higher plants*. (Academic Press: London). 651 pp.
27. Mingyu, S., Xiao, W., Chao, L., Chunxiang, Q., Xiaoqing, L., Liang, C., & Fashui, H. (2007). Promotion of energy transfer and oxygen evolution in spinach photosystem II by nano-anatase TiO_2. *Biological Trace Element Research*, *119*(2), 183-192. http://dx.doi.org/10.1007/s12011-009-8425-7
28. Moradi, I. (2020). *The effect of titanium dioxide nanoparticles on modulating the effects of water stress in strawberries under soilless cultivation conditions*. Faculty of Agriculture. Kordestan University.
29. Morteza, E., Moaveni, P., Farahani, H.A., & Kiyani, M. (2013). Study of photosynthetic pigments changes ofmaize (*Zea mays* L.) under nano TiO_2 spraying at various growth stages. *Springer Plus*, *2*(1), 247. http://dx.doi.org/10.1186/2193-1801-2-247
30. Qi, M., Liu, Y., & Li, T. (2013). Nano-TiO_2 improves the photosynthesis of tomato leaves under mild heat stress. *Biological Trace Element Research*, *156*, 323-328. http://dx.doi.org/10.1007/s12011-013-9833-2
31. Rezaei, F., Moaveni, P., & Mozafari, H. (2015). Effect of different concentrations and time of nano TiO_2 spraying on quantitative and qualitative yield of soybean (*Glycine max* L.) at Shahr-e-Qods, Iran. *Biological Forum – An International Journal*, *7*(1), 957-964.
32. Sadeghi, P., & Hasanpour, H. (2021). Effect of foliar application of nano-TiO_2 on some quantitative and qualitative attributes of strawberry fruit (*Fragaria × ananassa* Duch.) cv. Sabrina under deficit fertigation. *Journal of Horticultural Sciences and Techniques of Iran*, *22*(3), 371-382.
33. Siddiqi, K.S., & Husen, A. (2016). Engineered gold nanoparticles and plant adaptation potential. *Nanoscale research letters* 11(1): 400. http://doi.org/10.1186/s11671-016-1607-2
34. Siddiqi, K.S., & Husen, A. (2017). Plant response to engineered metal oxide nanoparticles. *Nanoscale research letters* 12(1): 92. http://dx.doi.org/10.1186/s11671-017-1861-y
35. Song, C., Huang, M.C., White, J., Zhang, X., Wang, W., Kyei Sarpong, C., Jamali, Z.H., Zhang, H., Zhao, L., & Wang, Y. (2020). Metabolic profile and physiological response of cucumber foliar exposed to engineered MoS_2 and TiO_2 nanoparticles. *Elsevier*, 1-10. http://dx.doi.org/10.1016/j.impact.2020.100271
36. Taiz, L., & Zeiger, E. (2002). *Plant Physiology*. Sinauer Associates.
37. Tanada-Palmu, P., & Grosso, C. (2005). Effect of edible wheat gluten-based films and coatings on refrigerated strawberry (*Fragaria ananassa*) quality. *Postharvest Biology and Technology*, *36*, 199-208. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2004.12.003
38. Tang, Y., Ma, X., Li, M., & Wang, Y. (2020). The effect of temperature and light on strawberry producthin in a solar greenhouse. *Solar Energy*, *195*, 318-328. http://dx.doi.org/10.1016/j.solener.2019.11.070
39. Tehrani, A. (2014). *The effect of foliar application of humic substances on some quantitative and qualitative characteristics of strawberry var. Camarosa*. Ph.D Dissertation, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran. (In Persian).
40. Todeschini, V., Aitlahmidi, N., Mazzucco, E., Marsano, F., Gosetti, F., & Robotti, E. (2018). Impact of beneficial microorganisms on strawberry growth, fruit production, nutritional quality, and volatilome. *Frontiers in Plant Science*, *9*, 1611. http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2018.01611
41. Turhan, E., & Eris, A. (2005). Changes of micronutrients, dry weight, and chlorophyll contents in strawberry plants under salt stress conditions. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, *36*(7-8), 1021-1028. http://dx.doi.org/10.1081/CSS-200050418
42. Yang, F., Hong, F., You, W., Liu, C., Gao, F., Wu, C., & Yang, P. (2006). Influence of nano-anatase TiO_2 on the nitrogen metabolism of growing spinach. *Biological Trace Element Research*, *110*(2), 179-190. https://doi.org/10.1385/BTER:110:2:179
43. Zheng, L., Hong, F., Lu, S., & Liu, C. (2005). Effect of nano-TiO_2 on strength of naturally aged seeds and growth of spinach. *Biological Trace Element Research*, *104*(1), 83-91. http://dx.doi.org/10.1385/bter%3A104%3A1%3A083

44. Zheng, L., Mingyu, S., Chao, L., Liang, C., Huang, H., Xiao, W., Xiaoqing, L., Yang, F., Gao, F., & Hong, F. (2007). Effects of nanoanatase TiO_2 on photosynthesis of spinach chloroplasts under different light illumination. *Biological Trace Element Research*, *119*, 68-76. https://doi.org/10.1007/s12011-007-0047-3

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

CC BY

Research Article
Vol. 37, No. 2, Summer 2023, p. 523-540

Investigation the Different Levels of Drought Stress on Almond Cultivars

E. Safavi[1], M. Yadegari[2,3*], S.A. Mousavi[3, 4], B. Haghighati[3, 5]

Received: 06-07-2022 Revised: 05-10-2022 Accepted: 22-10-2022 Available Online: 22-10-2022	**How to cite this article:** Safavi, E., Yadegari, M., Mousavi, S.A., & Haghighati, B. (2023). Investigation the different levels of drought stress on almond cultivars. *Journal of Horticultural Science, 37*(2), 523-540. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jhs.2022.77478.1184

Introduction

Water shortage is very frequent in many countries, and, together with the rising demand for industry, growth of human population, climate change and specifically the trend towards irrigated agriculture, has led to widespread problems of water scarcity, especially in Middle East countries. This situation imposes the need to optimize water use in all human activities. Among the different productive uses of water, agriculture is by far the main water user in most water scarce regions and, consequently, any potential improvement in the use of the available water resources may play a significant role toward achieving a more sustainable use of water. Plant responses to water deprivation are usually monitored through selected morphological and physiological parameters which have been proven to be good indicators of drought in different studies. Some of the most important standards for evaluating plant genotypes under drought stress are measurements of morphological parameters such as height, leaf characters and root growth.

Materials and Methods

To compare the growth response of different almond cultivars to different levels of water stress, an experiment was conducted as a split plot in the base of randomized complete block design with three replications in the Agricultural and Natural Resources Research Center of Chaharmahal and Bakhtiari Province in two growing season 2019-2020 and 2020-2021. Different irrigation periods based on the percentage of usable soil moisture between filed capacity to wilting point, including 70% filed capacity (control or no stress), 50% filed capacity (mild stress), 30% filed capacity (medium stress) and 10% of field capacity (severe stress) were considered as the main factor of the experiment. The sub-factor included 14 commercial cultivars of almonds (Mamaei, Rabi, Saba, Araz, Eskandar, Aidin, Shahrood 6, 7, 8, 10, 12, 13 and 21 and GN vegetative rootstock), all of which were grafted on GN rootstock. In this study, uniformly grafted seedlings in terms of age, stem diameter and height were selected and planted. In the second year after planting the seedlings, in order to apply drought stress, tubes for hygrometer (TDR) were installed in each experimental plot and based on soil moisture content, irrigation cycle was determined for different treatments.

1 and 3- Ph.D. Student and Associate Professor, Department of Agronomy and Medicinal Plants, Faculty of Agriculture, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran, respectively.
2- Associate Professor, Medicinal, Spicy and Aromatic Plants Research Center, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran
(*- Corresponding Author Email: mehrabyadegari@gmail.com)
4- Assistant Professor, Horticulture Crops Research Department, Chaharmahal and Bakhtiari Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension organization (AREEO), Shahrekord, Iran
5- Assistant Professor of Soil and Water Research Department, Chaharmahal and Bakhtiari Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Shahrekord, Iran
DOI: 10.22067/jhs.2022.77478.1184

Results and Discussion

In both years, three months after applied water stress growth traits and nutrient concentrations in the leaves of treated seedlings were measured. Based on the results of analysis of variance, the morphological traits of almond seedlings were significantly affected by cultivar type and drought stress level. In all almond cultivars, the highest height was belonged to seedlings that were grown in non-stress conditions and with increasing the drought stress intensity, the height of almond seedlings was decreased. Under severe drought stress, GN and Mamaei cultivars had the highest (183.93 cm) and the lowest (94.60 cm) height, respectively. Seedling height in GN, Shahrood 12, Saba and Shahrood 10 cultivars showed the lowest decrement under severe drought stress. In all cultivars, drought stress caused a significant reduction in the length and width of the seedlings crown, and the greatest decreasing was recorded in severe drought stress (10% FC). Under severe drought stress, cultivar GN had the largest crown and cultivars Rabi, Shahrood 7 and Eskandar had the smallest crown. Increasing the drought stress intensity significantly reduced the branches growth of seeding in terms of number and length of sub-branches. As the intensity of drought stress increased, the length of sub-branches decreased however the number of intermediates in sub-branches increased. In non-stressed condition, the cultivar GN had the longest branch (55.95 cm), which was significantly higher than the other studied almond cultivars. The shortest branches were also observed in Saba (29.94 cm) and Eskandar (29.47 cm) cultivars. Increasing drought stress caused a significant reduction of leaf area in all studied cultivars and the highest decreasing was observed under severe drought stress. The GN (37.76 cm^2) and Shahrood 10 (31.81 cm^2) had the highest leaf area in non-stress and drought stress conditions. Under severe drought stress (10% FC) cultivar Shahrood 6 showed the lowest leaf area. The results of this study showed that increasing the intensity of dehydration significantly reduced the amount of nitrogen, phosphorus, manganese and zinc in the leaves of the studied cultivars of almonds, however, the amount of potassium and iron in stressed plants increased under drought stress. Based on the results of the present study, under severe drought stress the GN, Shahrood 8 and Shahrood 12 cultivars in terms of growth indices including seedling height, stem diameter, canopy growth, branch growth and concentration of macro and micro elements was superior compared with the other studied cultivars.

Conclusion

Based on the results of this study, drought stress significantly reduced growth indices and nutrient concentrations, although the reaction of almond cultivars to different levels of drought stress was different. In this study, among the studied almond cultivars GN, Shahrood 8 and Shahrood 12 cultivars in terms of growth characters including seedling height, stem diameter, canopy growth, branch growth and concentration of macro and micro elements showed higher tolerance to different level of drought stress. These cultivars less affected by the high intensities of dehydration. Therefore, GN, Shahrood 8 and Shahrood 12 cultivars can be used in future studies to evaluate the possibility of cultivating these cultivars in areas with water deficit.

Keywords: GN rootstock, Irrigation, Tolerance, Vegetative traits

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

مقاله پژوهشی
جلد ۳۷، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۲، ص. ۵۴۰-۵۲۳

بررسی اثر سطوح مختلف تنش خشکی بر ارقام بادام

اسماعیل صفوی[۱]- مهراب یادگاری[۲*و۳]- سید اصغر موسوی[۳و۴]- بیژن حقیقتی[۳و۵]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۴/۱۵
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۷/۱۳
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۷/۳۰

چکیده

جهت مقایسه واکنش رشدی ارقام مختلف بادام به سطوح مختلف تنش خشکی، آزمایشی به صورت اسپلیت پلات در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان چهار محال و بختیاری در دو سال زراعی ۱۳۹۸-۱۳۹۹ و ۱۳۹۹-۱۴۰۰ اجرا گردید. دوره‌های مختلف آبیاری بر اساس درصد رطوبت قابل استفاده خاک بین ظرفیت زراعی تا نقطه پژمردگی شامل ۷۰ درصد رطوبت ظرفیت زراعی (شاهد یا بدون تنش)، ۵۰ درصد رطوبت ظرفیت زراعی (تنش ملایم)، ۳۰ درصد رطوبت ظرفیت زراعی (تنش متوسط) و ۱۰ درصد رطوبت ظرفیت زراعی (تنش شدید) به عنوان فاکتور اصلی آزمایش در نظرگرفته شد. فاکتور فرعی شامل ۱۴ رقم تجاری بادام (’مامایی‘، ’ربیع‘،’صبا‘،’آراز‘،’اسکندر‘،’آیدین‘،’شاهرود ۶، ۷، ۸، ۱۰، ۱۲، ۱۳ و ۲۱ ‘و ’پایه رویشی GN‘) بود که همگی بر روی ’پایه رویشی GN‘ پیوند زده شده بودند. در هر دو سال مورد مطالعه، سه ماه پس از اعمال تنش صفات رشدی و غلظت عناصر غذایی در برگ نهال‌های تحت تیمار اندازه‌گیری شد. بر اساس نتایج تجزیه واریانس، صفات مورفولوژیکی نهال‌های بادام در هر دو سال مورد مطالعه به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر نوع رقم، سطح تنش خشکی و اثرات متقابل آن‌ها قرار گرفتند. افزایش شدت تنش خشکی همراه با کاهش معنی‌دار ارتفاع، رشد تاج، تعداد و طول شاخه‌های جانبی و سطح برگ ارقام مختلف بوده است. در همه ارقام، تنش خشکی باعث کاهش معنی‌دار طول و عرض تاج نهال‌ها گردید و تحت تنش شدید خشکی، رقم ’GN‘ بزرگترین تاج و رقم ’ربیع‘ کوچکترین تاج را داشتند. بیشترین طول شاخه در شرایط تنش خشکی در رقم ’GN‘ ثبت گردید و کمترین طول شاخه در رقم ’مامایی‘، مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با ارقام ’شاهرود ۱۳‘، ’ربیع‘، ’صبا ‘، ’شاهرود ۷‘، ’شاهرود ۶‘ و ’اسکندر‘ نداشتند. در شرایط بدون تنش و همچنین سطوح مختلف تنش خشکی، ارقام ’GN‘ (۳۷/۷۶ سانتی‌متر مربع) و ’شاهرود ۱۰‘ (۳۱/۸۱ سانتی‌متر مربع) بیشترین سطح برگ را داشتند و کمترین سطح برگ در شرایط تنش خشکی در رقم ’شاهرود۶‘ مشاهده گردید. بررسی نتایج اندازه‌گیری غلظت عناصر پرمصرف و کم مصرف نشان داد که افزایش شدت تنش کم‌آبی همراه با کاهش معنی‌دار مقدار نیتروژن، فسفر، منگنز و روی در برگ ارقام مورد مطالعه بادام بود، با این وجود مقدار پتاسیم و آهن در گیاهان رشد یافته تحت تنش خشکی بیشتر از شرایط نرمال آبیاری بود. بر اساس نتایج پژوهش حاضر، در شرایط تنش خشکی رقم ’GN‘ در مقایسه با سایر ارقام مورد مطالعه از نظر شاخص‌های رشدی و غلظت عناصر پرمصرف و کم‌مصرف، مقاومت بیشتری داشت و کم‌تر تحت تأثیر شدت-های بالای کم‌آبی قرار گرفت.

واژه‌های کلیدی: آبیاری، ’پایه GN‘، تحمل، صفات رویشی

۱- دانشجوی دکتری گروه زراعت و گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران
۲- دانشیار، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی ادویه‌ای و عطری، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: mehrabyadegari@gmail.com)
۳- گروه زراعت و گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران
۴- استادیار بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی چهار محال و بختیاری، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شهرکرد، ایران
۵- استادیار بخش تحقیقات خاک وآب، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی چهار محال و بختیاری، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شهرکرد، ایران

DOI: 10.22067/jhs.2022.77478.1184

مقدمه

تغییر اقلیم جهانی و گرم شدن کره زمین موجب کاهش بارندگی، افزایش نوسان در بارندگی‌ها و در نهایت کاهش میزان آب سفره‌های زیرزمینی شده است. علی‌رغم اینکه آب از فراوان‌ترین ترکیبات روی کره زمین است، در حال حاضر کمبود آب در نتیجه کاهش بارندگی یکی از دغدغه‌های مهم و محدودیت کلیدی در تولید محصولات کشاورزی محسوب می‌شود (Haas *et al.*, 2021). در شرایط حاضر یک سوم سطح زمین جزو مناطق خشک و نیمه خشک طبقه بندی می‌شود و در مناطق مرطوب هم گیاهان در طول فصل رشد با یک دوره تنش خشکی برخورد می‌کنند (Méndez-Toribio *et al.*, 2020). اگرچه تکنولوژی‌های نوین قادر به توزیع مناسب آب و افزایش راندمان مصرف جهت جلوگیری از هدررفت آب شده‌اند، با این وجود کاشت گیاهان متحمل به خشکی راه حل مناسب‌تری برای مناطق با کمبود منابع آبی می‌باشند (Toscano *et al.*, 2019). در چنین شرایطی شناسایی ژنوتیپ‌ها و ارقام گیاهی متحمل به کم آبی اهمیت ویژه‌ای دارد و یکی از اهداف مهم تحقیقاتی برای بسیاری از محصولات بوده و از راه حل‌های مناسب برای توسعه کشت در مناطق خشک و نیمه خشک به‌شمار می‌آید. ژنوتیپ‌های بومی ذخایر ژنتیکی ارزشمندی با خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی مهمی چون تحمل به خشکی هستند که می‌توانند مورد شناسایی قرار گرفته و در برنامه‌های اصلاحی استفاده شوند (Sorkheh *et al.*, 2011). شناسایی عوامل و ویژگی‌های مؤثر در عملکرد محصول در این ژنوتیپ‌ها می‌تواند در برنامه‌های به‌نژادی ارزشمند باشد. برنامه‌های اصلاح ژنتیکی در راستای تحمل به خشکی با استفاده از تنوع ژنتیکی موجود نیاز به یک روش ارزیابی یا غربال کردن کارآمد دارد که باید سریع بوده و قادر به ارزیابی عملکرد گیاه در مراحل حساس رشدی و غربال کردن یک جمعیت بزرگ فقط با استفاده از تعداد محدود مواد گیاهی باشد. در این راستا پیش غربالی در برنامه‌های اصلاحی درختان میوه به دلیل داشتن دوره نونهالی طولانی بسیار اهمیت داشته و شناسایی نشانگرهای مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی که با صفات ارزشمند اصلاحی در ارتباط باشند، به پیشرفت برنامه‌های به‌نژادگران کمک شایانی می‌نمایند (Yadollahi *et al.*, 2011).

گونه‌های مختلف بادام عمدتاً به عنوان درختان یا درختچه‌های مقاوم به خشکی شناخته شده‌اند و با محیط‌های خشک و نیمه خشک سازگاری یافته‌اند. گونه‌های وحشی بادام دارای تنوع ژنتیکی بسیار بالایی هستند و منبع ژرم پلاسم ارزشمندی جهت استفاده در برنامه های اصلاحی به شمار می‌روند (De Herralde *et al.*, 2001; Gradzıel *et al.*, 2014). از آنجایی که بسیاری از گونه‌های وحشی بادام به‌عنوان پایه برای بادام اهلی مورد استفاده قرار گرفته‌اند، گزینش مقاوم‌ترین پایه‌ها بر اساس بررسی خصوصیات مورفولوژیکی آن‌ها در شرایط تنش خشکی، در راستای بهبود عملکرد میوه در محیط‌های خشک اهمیت فراوانی دارد (Sorkheh *et al.*, 2011). علاوه بر این، تفاوت در تحمل ژنوتیپ‌ها، ارقام و گونه‌های مختلف بادام نسبت به تنش‌های غیر زیستی از جمله خشکی، شوری و سرما توسط محققین مختلفی گزارش شده است (Barzegar *et al.*, 2012; Zokaee Khosroshahi, 2013). رقم سوپرنووا و ژنوتیپ‌های ایرانی "۸–۶" و "B-124" به عنوان ژنوتیپ‌های متحمل به تنش خشکی توسط کریمی و همکاران (Karimi *et al.*, 2015) معرفی شده‌اند. ایساکیدیس و همکاران (Isaakidis *et al.*, 2004) عادت‌های رشدی و فیزیولوژیکی بادام رقم فرانیس روی ۸ پایه مختلف را بررسی قرار دادند و رقم فرانیس روی رقم 'GN22' را بر اساس خصوصیاتی مورفولوژیکی، پتانسیل آب برگ و ریزش برگ متحمل به تنش خشکی گزارش کردند که از نظر بیشتر خصوصیات مورد بررسی با پایه‌های 'GN15'، GF677 و 'Derepanto' اختلاف معنی‌دار نداشته است. دی‌هرالد (De Herralde, 2000) تحمل به تنش خشکی را در هشت رقم تجاری بادام در شرایط گلدانی بررسی و گزارش کرد که ارقام مختلف در شرایط کمبود آب از نظر خصوصیات رویشی تفاوت‌های قابل توجهی با یکدیگر داشته‌اند. استفاده از تنوع ژنتیکی با انتخاب ژنوتیپ‌ها یا ارقام متحمل به خشکی از طریق کنترل آبیاری در مزرعه یا شرایط کنترل شده در گلخانه انجام می شود. بر این اساس مطالعه و بررسی تنوع ژنتیکی بر اساس خصوصیات رشدی و عملکردی از کارآمدترین روش‌ها در اصلاح گیاهان برای معرفی و انتخاب ژنوتیپ‌های مقاوم به خشکی است، زیرا مقاومت به خشکی یک صفت کمی است که توسط چند ژن کنترل می‌شود. بنابراین استفاده از این روش گزینش نسبت به سایر روش‌های اصلاح، زودتر به نتیجه می‌رسد (Kim *et al.*, 2020).

با در نظر گرفتن موارد مزبور و با توجه به برنامه توسعه باغات دیم و گسترش باغات با آبیاری تحت کنترل در اراضی شیب‌دار در استان چهارمحال و بختیاری، ارزیابی و مقایسه واکنش ارقام مختلف بادام به تنش خشکی بر روی یک پایه رویشی و یکنواخت جهت انتخاب و توصیه کشت رقم مقاوم در شرایط کم آبی ضروری به نظر می‌رسد. پژوهش حاضر به‌منظور بررسی تحمل به سطوح مختلف تنش آبی در نهال‌های پیوندی چهارده رقم تجاری بادام روی پایه 'GN' انجام گردید که تاکنون مقایسه خصوصیات رشدی این ارقام بر روی یک پایه رویشی مشترک در کشور مورد مطالعه قرار نگرفته است.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان چهار محال و بختیاری اجرا گردید. مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان چهارمحال و بختیاری در منطقه‌ای موسوم به چهارتخته در کیلومتر ۵ جاده شهرکرد-فرخشهر واقع گردیده است. این منطقه دارای عرض جغرافیایی ۵۳ درجه، ۱۷ دقیقه و ۳۲ ثانیه شمالی و طول جغرافیایی ۵۶ درجه، ۵۵ دقیقه و ۵۳ ثانیه شرقی است. در منطقه مورد مطالعه، حداقل دما در زمستان و حداکثر دما در تابستان به ترتیب ۲۷/۴ و ۳۸/۸ درجه سانتی‌گراد می باشد. متوسط بارندگی و رطوبت نسبی به ترتیب ۳۱۵ میلی‌متر و ۴۷ درصد است. بر اساس روش گوسن و طبقه‌بندی اقلیمی و بیوکلیماتیک ایران، این منطقه در اقلیم استپی سرد قرار دارد و طبق روش آمبرژه این منطقه جزء مناطق خشک محسوب می‌گردد.

این پژوهش در زمینی به ابعاد ۵۰ × ۶۰ متر با تعداد ۱۶۸ نهال بادام در قالب کرت‌های یکبار خرد شده (اسپلیت پلات) بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در دو سال زراعی ۱۳۹۹-۱۳۹۸ و ۱۴۰۰-۱۳۹۹ اجرا شد. دورهای مختلف آبیاری بر اساس درصد رطوبت قابل استفاده خاک بین ظرفیت زراعی تا نقطه پژمردگی شامل ۷۰ درصد رطوبت ظرفیت زراعی (شاهد یا بدون تنش)، ۵۰ درصد رطوبت ظرفیت زراعی (تنش ملایم)، ۳۰ درصد رطوبت ظرفیت زراعی (تنش متوسط) و ۱۰ درصد رطوبت ظرفیت زراعی (تنش شدید) به عنوان فاکتور اصلی آزمایش در نظرگرفته شد. فاکتور فرعی شامل ۱۴ رقم تجاری بادام (’مامایی‘، ’ربیع‘،’صبا‘،’آراز‘،’اسکندر‘،’آیدین‘،’شاهرود۶، ۷، ۸، ۱۰، ۱۲، ۱۳ و ۲۱ و ’پایه رویشی GN‘) بود که همگی بر روی پایه ’GN‘ پیوند زده شده بودند. قبل از اجرای آزمایش، خاک زمین محل اجرای پروژه مورد آزمایش قرار گرفت و خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک اندازه‌گیری شد (جدول ۱). کوددهی بر اساس بررسی نتایج آنالیز خصوصیات فیزیکو-شیمیایی خاک صورت گرفت.

برای انجام این آزمایش، اوایل شهریور ماه سال ۱۳۹۷، نهال‌های دوساله پیوندی یکنواخت از نظر سن، قطر ساقه و ارتفاع انتخاب و در فواصل ۵۰ سانتی‌متر روی ردیف و ۲ متر بین دو ردیف کشت شدند. ابعاد هر کرت آزمایشی ۲ × ۳ متر بود. فاصله بین کرت‌های فرعی ۱ متر و کرت‌های اصلی ۱/۵ متر بود. در شروع فصل کشت در سال دوم، به مدت ۲-۳ ماه قبل از شروع تیمار تنش آبیاری، مراقبت‌های لازم از نهال‌ها انجام گردید. به‌منظور اعمال تنش خشکی، در اواسط خرداد ماه سال ۱۳۹۸ در هر واحد آزمایشی، لوله‌های مخصوص دستگاه رطوبت سنج (TDR) جهت اندازه‌گیری میزان رطوبت خاک نصب شد و براساس قرائت دستگاه، دور آبیاری در تیمارهای مختلف تعیین گردید. در سال دوم نیز به همین روش سطوح مختلف تنش خشکی اعمال شد.

جدول ۱- خصوصیات فیزیکو-شیمیایی خاک مزرعه مورد مطالعه

Table 1- The soil physico-chemical properties of the studied filed

هدایت الکتریکی Electric conductivity (dS m^{-1})	کل مواد خنثی Total neutralizing value (%)	کربن آلی Organic carbon (%)	کل نیتروژن Total nitrogen (%)	اسیدیته Acidity	پتاسیم Potassium (mg.kg^{-1})	فسفر Phosphorus (mg.kg^{-1})	روی Zinc (mg.kg^{-1})	منگنز Manganese (mg.kg^{-1})	آهن Iron (mg.kg^{-1})	مس Copper (mg.kg^{-1})	بر Boron (mg.kg^{-1})
0.969	31.3	0.586	0.049	7.89	293	14.8	0.79	10.55	4.13	1.57	2.08

صفات مورد ارزیابی

صفات رویشی

سه ماه پس از اعمال تنش، در هر واحد آزمایشی با حذف اثر حاشیه‌ای، نهال‌های پیوندی از نظر صفات رشدی و غلظت عناصر غذایی در هر دو سال مورد مطالعه مورد بررسی قرار گرفت. صفات رویشی شامل ارتفاع نهال، قطر ساقه، طول و عرض تاج، تعداد و طول شاخه‌های فرعی، تعداد میانگره‌های شاخه‌های فرعی و سطح برگ اندازه‌گیری شد. ارتفاع نهال، طول و عرض تاج و همچنین طول شاخه‌های فرعی با متر تعیین گردید. قطر ساقه با کولیس اندازه‌گیری شد و از دستگاه سطح‌سنج (LI3100CAREA METER) جهت اندازه‌گیری سطح برگ استفاده گردید.

اندازه‌گیری عناصر غذایی

نیتروژن

جهت اندازه‌گیری درصد نیتروژن، برگ خشک آسیاب شده در لوله هضم ریخته و کاتالیزور همراه با اسید سولفوریک غلیظ به آن افزوده شد. عصاره حاصل در لوله آزمایش به مدت ۲ ساعت روی دستگاه هضم قرار داده شد و بعد از سرد شدن محتویات لوله، سود ۱۰ نرمال و محلول اسید بوریک اضافه گردید. تیتراسیون با اسیدسولفوریک ۰/۰۰۵ نرمال انجام گرفت و بر اساس میلی‌لیتر

اسیدسولفوریک مصرف شده، میزان نیتروژن به صورت درصد نیتروژن موجود در نمونه با ماکروکجلدال اندازه‌گیری شد (Emami, 1996).

فسفر

میزان فسفر برگ، بر اساس روش کالریمتری اندازه گیری شد و جذب نمونه‌ها در طول موج ۶۶۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شدند (Emami, 1996).

پتاسیم

برای اندازه‌گیری میزان پتاسیم از روش هضم سوزاندن نمونه خشک گیاهی در کوره با دمای ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ ساعت و واکنش با اسیدکلریدریک ۱/۵ مولار استفاده گردید. مقدار پتاسیم بر اساس روش فلیم فتومتری تعین گردید (Emami, 1996).

آهن، منگنز و روی

برای اندازه‌گیری میزان آهن، منگنز و روی در برگ، ۸ میلی‌لیتر از محلول ۳ به ۱ اسیدکلریدریک به اسید نیتریک غلیظ، به نمونه‌های برگی اضافه و در دمای اتاق قرار داده شدند. سپس از ۲۴ ساعت، به منظور خارج شدن بخارات اسیدی از محلول، عصاره حاصل به مدت ۱۰ دقیقه حرارت داده و با آب مقطر به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد و با دستگاه جذب اتمی میزان آهن، منگنز و روی نمونه‌ها اندازه گیری گردید (Emami, 1996 ; Lindsay and Norvell, 1978).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

تجزیه داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS 16 و مقایسه میانگین داده‌ها بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. جهت رسم نمودارها از نرم افزار Excel 2013 استفاده شد. برآورد همبستگی بین صفات بر اساس آزمون همبستگی پیرسون انجام گردید.

نتایج و بحث

صفات رویشی

بر اساس نتایج تجزیه واریانس ارتفاع نهال‌های بادام به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر سال، رقم، تنش خشکی و اثرات متقابل آن‌ها بوده است (جدول ۲).

به دلیل رشد رویشی سالیانه، ارتفاع نهال‌های بادام در سال دوم در همه ارقام بیشتر از سال اول بود. در همه ارقام بادام در هر دو سال مورد مطالعه، بیشترین ارتفاع متعلق به نهال‌هایی بود که در شرایط بدون تنش رشد یافته بودند و با افزایش شدت تنش خشکی، ارتفاع نهال‌ها کاهش یافت. در شرایط بدون تنش بیشترین ارتفاع نهال در رقم 'GN' با ۲۲۷/۶۳ سانتی‌متر در سال دوم مشاهده شد و رقم 'صبا ' در سال اول کمترین ارتفاع (۱۴۸/۹۹ سانتی‌متر) را در بین ارقام مورد مطالعه داشت. در تنش شدید خشکی ارقام 'GN' و 'مامایی'، به ترتیب بیشترین و کمترین ارتفاع را داشتند. ارتفاع نهال در ارقام 'GN'، 'شاهرود۱۲'، 'صبا ' و 'شاهرود۱۰' کمترین کاهش را در شرایط تنش شدید خشکی نشان دادند. در مقابل بیشترین میزان کاهش ارتفاع در ارقام 'شاهرود۶'، 'مامایی'، 'ربیع' و 'شاهرود۱۳' مشاهده گردید که ارتفاع نهال‌های این ارقام به ترتیب ۴۱/۳۳، ۳۹/۳۸، ۳۳/۵۱، ۳۳/۶۹ درصد در شرایط تنش شدید خشکی نسبت به شرایط بدون تنش کاهش داشتند (شکل ۱). در بررسی نتایج حاصل از اندازه‌گیری قطر ساقه نهال‌های بادام مشخص گردید که سال، رقم و سطوح مختلف آبیاری اثر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بر قطر ساقه داشتند ولی اثر متقابل رقم و تنش خشکی روی این صفت معنی‌دار نبود (جدول ۲). بررسی اثر تنش خشکی نشان داد که تنش کم‌آبی به‌طور معنی‌داری قطر ساقه را کاهش داد و بیشترین (۲۸/۲۷ میلی‌متر) و کمترین (۲۰/۴۸ میلی‌متر) قطر ساقه به ترتیب در شرایط بدون تنش (۷۰ درصد FC) و تنش شدید (۱۰ درصد FC) مشاهده شد (شکل ۲-A). در بین ارقام مورد مطالعه رقم 'شاهرود۱۲' بیشترین قطر ساقه (۳۳/۸۳ میلی‌متر) و رقم 'ربیع' (۲۱/۱۸ میلی‌متر) کمترین قطر را داشتند (شکل ۲-B). بر اساس نتایج تجزیه واریانس طول و عرض تاج نهال‌های بادام تغییری معنی‌داری در طول دو سال داشته است. همچنین اثر رقم، سطوح مختلف تنش خشکی و اثر متقابل رقم × تنش خشکی نیز بر طول و عرض تاج در نهال‌های بادام معنی‌دار بود (جدول ۲). در شرایط بدون تنش، رقم 'GN' بیشترین طول (۱۴۹/۶ سانتی‌متر) و عرض (۱۷۲/۳۸ سانتی‌متر) تاج را داشت و کمترین طول (۶۱/۶۹ سانتی‌متر) و عرض (۶۳/۷۱ سانتی‌متر) تاج به‌ترتیب در ارقام 'اسکندر' و 'ربیع' مشاهده شد. در همه ارقام، تنش خشکی باعث کاهش معنی‌دار طول و عرض تاج نهال‌ها گردید و بیشترین کاهش در تنش شدید خشکی (۱۰ درصد FC) ثبت گردید. تحت تنش شدید خشکی رقم 'GN' بزرگترین تاج و ارقام 'ربیع'،'شاهرود۷' و 'اسکندر' کوچکترین تاج را داشتند. بر اساس نتایج به‌دست آمده در ارقام 'GN' و 'شاهرود۸' نسبت به سایر ارقام، رشد تاج نهال کمتر تحت تأثیر تنش خشکی قرار گرفت. با اینحال بیشترین کاهش در رشد تاج به‌ترتیب در ارقام 'ربیع'،'شاهرود ۲۱، ۱۳ و ۶' مشاهده گردید (جدول ۳).

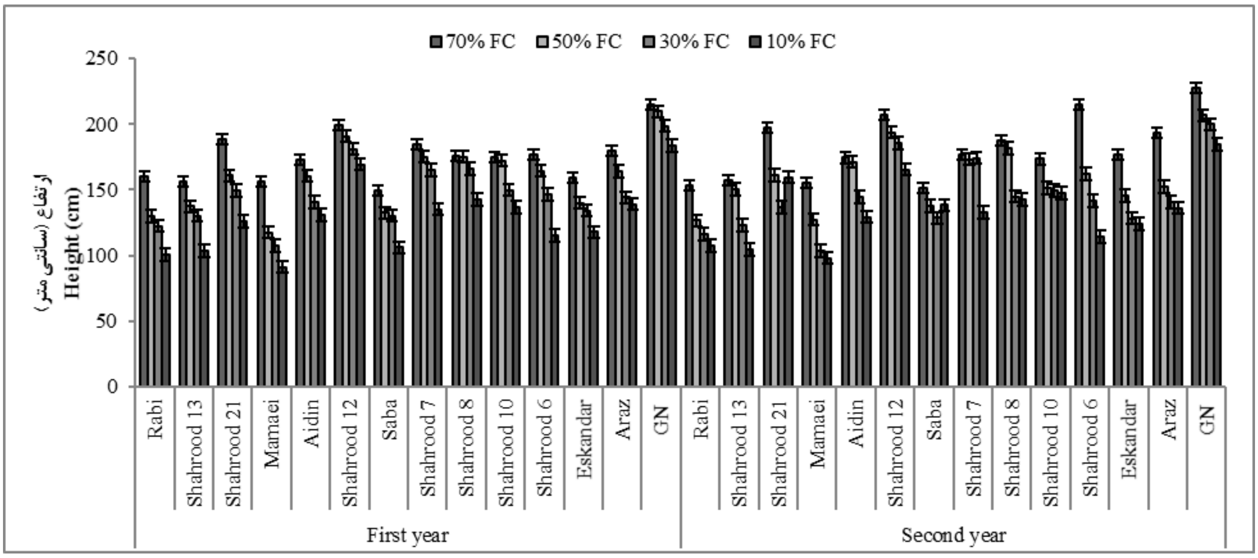
جدول ۲- تجزیه واریانس صفات رشدی ارقام مختلف بادام تحت تنش خشکی در دو سال مورد مطالعه

Table 2- ANOVA forthe growth traits of different almond cultivars under drought stress in two studied years

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean squares							
		ارتفاع نهال Height	قطر ساقه Stem diameter	طول تاج Crown length	عرض تاج Crown width	تعداد شاخه فرعی No. of sub-branch	طول شاخه فرعی Sub-branch length	تعداد میانگره شاخه فرعی No. of internode of sub-branch	سطح برگ Leaf area
سال Year	1	591.587 *	362.680 **	291.910 **	151.018 **	35.131 ns	24.265 *	208.571 **	3175.755 **
تکرار (سال) Replication (Year)	4	185.377 ns	469.148 **	4.941 ns	33.263 ns	70.103 **	0.213 ns	1.161 ns	290.583 **
خشکی Drought	3	33540.703 **	879.549 **	6488.509 **	5753.994 **	1071.148 **	1682.783 **	2196.724 **	883.345 **
سال × خشکی Drought × Year	3	515.298 **	119.140 **	11.555 ns	7.235 ns	0.293 ns	0.005 ns	11.746 **	38.814 **
خطای اصلی Main error	12	244.825	10.259	27.576	7.032	92.965	23.199	2.907	41.169
رقم Cultivar	13	12303.590 **	274.695 **	12028.958 **	16191.580 **	620.193 **	1408.838 **	664.474 **	723.769 **
سال × رقم Cultivar × Year	13	89.755 ns	38.306 **	0.0001 ns	0.0002 ns	0.379 ns	0.036 ns	0.0002 ns	16.007 **
خشکی × رقم Drought × Cultivar	39	344.787 **	7.920 ns	89.130 **	54.205 **	13.793 ns	19.089 **	15.751 **	7.082 *
سال × خشکی × رقم Drought × Year × Cultivar	39	180.179 **	8.955 ns	0.0003 ns	0.0003 ns	0.406 ns	0.032 ns	0.0006 ns	2.447 ns
خطای فرعی Minor Error	208	85.806	9.244	11.557	17.774	16.191	5.982	2.713	4.593

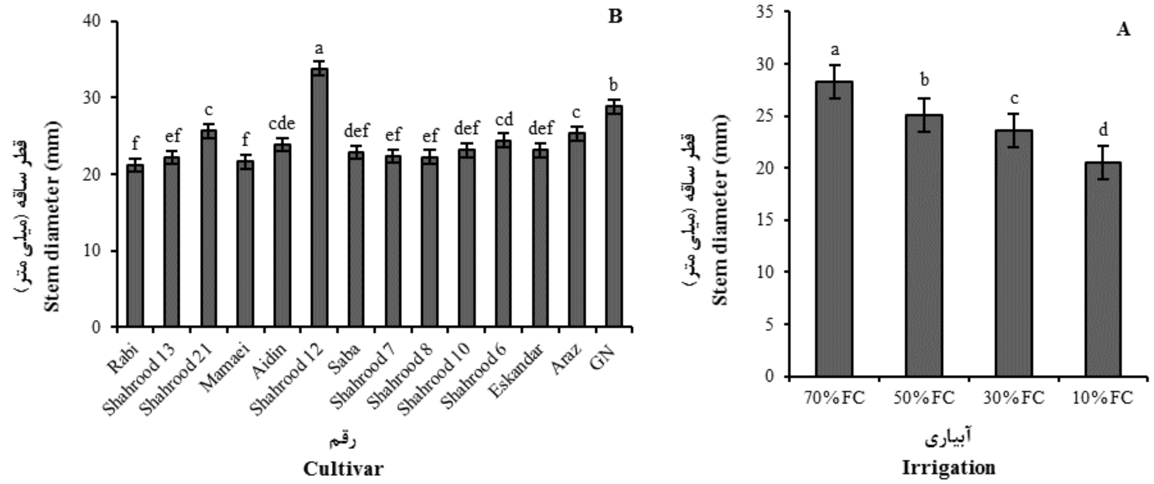
ns غیر معنی‌دار، ** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد و * معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد

ns Non-significant, ** and *: Significant at 1% and 5% of probability levels



شکل ۱- اثر تنش خشکی بر ارتفاع ارقام مختلف بادام در دو سال مورد مطالعه

Figure 1- The effect of drought stress on height of different almond cultivars in two studying years



شکل ۲- اثر سطوح مختلف تنش خشکی (A) و نوع رقم (B) بر قطر ساقه نهال بادام

Figure 2- The effect of drought stress (A) and cultivar (B) on stem diameter of almond tree (DMRT, *p≤0.05*)

چرخه رشد درختان طولانی مدت است بنابراین پیش غربال کردن نهال‌ها در برنامه‌های اصلاحی درختان میوه اهمیت زیادی دارد. درختان برای مقابله با تنش کم آبی عموماً از مکانیسم اجتناب بافت‌ها از تنش کم آبی بهره می‌برند. اندام‌های مختلف گیاهی مانند ساقه، ریشه و برگ نسبت به تنش خشکی حساس هستند و خشکی باعث کاهش توسعه سلول‌های این اندام‌ها می‌شود (Bodner *et al.*, 2015). از آنجایی که رشد یکی از حساس‌ترین فرآیندهای گیاهی نسبت به کاهش آب است، بنابراین کاهش رشد اولین واکنش گیاهان نسبت به تنش خشکی در بسیاری از گونه‌های گیاهی می‌باشد. در پژوهش حاضر ارتفاع نهال‌ها، قطر ساقه، طول و عرض تاج در ارقام مختلف بادام تحت تأثیر تنش خشکی به‌ویژه تنش متوسط (۳۰ درصد FC) و شدید (۱۰ درصد FC) کاهش معنی‌داری داشتند (جدول ۳). مطابق با نتایج حاضر، پروانه و افشاری (Parvaneh and Afshari, 2013) گزارش کردند که با افزایش فواصل آبیاری رشد طولی (ارتفاع گیاه) و رشد قطری (قطر ساقه) در دانهال‌های حاصل از بذر توده‌های مختلف بادام کاهش یافت. کاهش رشد طولی تحت تأثیر تنش کم‌آبی در سیب (Treder *et al.*, 1996)، زیتون (Arzani and Arji, 2000) و بادام (Fulton *et al.*, 2014) گزارش شده است. تنش

خشکی با کاهش آماس سلولی، رشد طولی ساقه را کاهش می‌دهد (Condon, 2020).

بررسی رشد شاخه‌های فرعی در نهال‌های بادام نشان داد که تعداد و طول شاخه‌های فرعی و همچنین تعداد میانگره‌ها در شاخه-های فرعی به‌طور معنی‌داری در ارقام مختلف بادام متفاوت بوده است و تنش خشکی به‌طور معنی‌داری این صفات را تحت تأثیر قرار دادند. بر اساس نتایج حاصل، اثرات متقابل رقم و تنش خشکی بر تعداد شاخه‌های فرعی معنی‌دار نبود با این وجود در دو سال مورد بررسی طول شاخه‌های فرعی و تعداد میانگره آن‌ها به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر اثر متقابل رقم × خشکی قرار گرفتند (جدول ۲). بررسی اثر تنش خشکی نشان داد که افزایش شدت تنش خشکی موجب کاهش معنی‌دار تعداد شاخه‌های فرعی گردید و کمترین تعداد شاخه فرعی در تنش خشکی ۱۰ درصد FC ثبت گردید (شکل ۳-A). بیشترین تعداد شاخه‌های فرعی در رقم 'آراز' (۲۷/۹۷ شاخه) مشاهده گردید که تفاوت معنی‌داری با ارقام 'شاهرود۶' (۲۷/۵۲ شاخه)، 'شاهرود۷' (۲۷/۵۱ شاخه) و 'شاهرود۸' (۲۶/۷۱ شاخه) نداشت. رقم 'شاهرود۱۳' (۱۳/۴۶ شاخه) کمترین تعداد شاخه‌های فرعی را داشت که با ارقام 'ربیع' (۱۴/۰۱ شاخه) و 'آیدین' (۱۵/۶۲ شاخه) تفاوت معنی‌داری نداشت (شکل ۳-B).

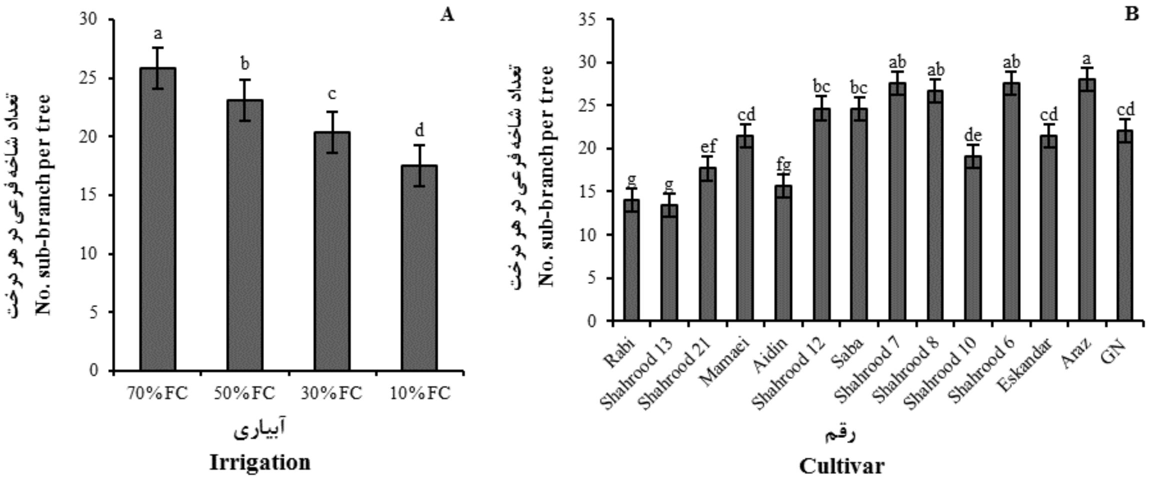
جدول ۳- طول و عرض تاج ارقام مختلف بادام تحت تنش خشکی

Table 3- Crown length and width of different almond cultivars under drought stress

رقم Cultivar	طول تاج Crown length (cm)				عرض تاج Crown width (cm)			
	شاهد 75% FC	تنش ملایم 50% FC	تنش متوسط 30% FC	تنش شدید 10% FC	شاهد 75% FC	تنش ملایم 50% FC	تنش متوسط 30% FC	تنش شدید 10% FC
ربیع (Rabi)	76.19 g	70.11 h	58.42 j	43.68 kl	63.71 k	61.92 l	53.50 m	40.89 n
شاهرود ۱۳ (Shahrood 13)	79.02 fg	65.77 i	59.76 j	55.18 jk	89.05 efg	79.25 h	74.67 i	65.72 k
شاهرود ۲۱ (Shahrood 21)	80.52 fg	76.44 g	65.42 i	53.52 jk	92.55 e	90.08 ef	77.83 hi	71.39 ij
مامایی (Mamaei)	81.69 f	79.77 fg	74.92 gh	56.68 j	93.21 e	87.25 fg	81.17 gh	66.55 jk
آیدین (Aidin)	82.69 f	73.44 gh	67.09 hi	63.02 ij	89.38 efg	82.75 gh	78.50 h	69.55 j
شاهرود ۱۲ (Shahrood 12)	82.02 f	81.61 f	76.76 g	68.18 hi	90.88 ef	89.58 efg	86.83 fg	79.72 h
صبا (Saba)	80.19 fg	75.44 gh	73.26 gh	61.02 j	87.88 fg	85.42 fg	80.83 gh	68.89 jk
شاهرود ۷ (Shahrood 7)	64.52 i	67.44 hi	57.09 j	45.68 kl	71.21 i	69.75 j	67.50 jk	53.89 lm
شاهرود ۸ (Shahrood 8)	77.85 g	75.11 gh	71.42 h	68.18 hi	86.55 fg	85.42 fg	80.50 gh	78.39 h
شاهرود ۱۰ (Shahrood 10)	64.02 i	57.94 j	52.09 jk	49.52 jkl	73.55 i	66.08 jk	60.83 l	57.72 lm
شاهرود ۶ (Shahrood 6)	94.35 d	75.44 gh	70.09 h	65.85 i	101.71 d	96.08 de	84.83 fg	74.05 i
اسکندر (Eskandar)	61.69 j	61.44 j	56.59 j	43.85 kl	75.05 hi	66.25 jk	63.17 k	58.05 lm
آراز (Araz)	95.85 d	92.44 d	89.09 e	77.68 g	106.21 d	105.92 d	93.17 e	86.22 fg
GN	154.19 a	149.60 a	142.09 bc	136.85 c	172.38 a	168.92 a	162.83 b	156.05 c

در هر صفت و گروه مقایسه شده، تیمارهای با حروف یکسان اختلاف معنی‌داری با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

Values followed by the same letter in each trait have no significant difference based on Duncan's multiple range test ($p\leq 0.05$)



شکل ۳- اثر سطوح مختلف تنش خشکی (A) و نوع رقم (B) بر تعداد شاخه فرعی نهال بادام

Figure 3- The effect of drought stress (A) and cultivar (B) on sub-branch number of almond tree (DMRT, $p≤0.05$)

بر اساس نتایج اثر متقابل رقم و تنش خشکی از نظر طول شاخه‌های فرعی، رقم ’GN‘ دارای طویل‌ترین شاخه (۵۵/۹۵ سانتی‌متر) در شرایط بدون تنش بود که به‌طور معنی‌داری بیشتر از طول شاخه‌های فرعی در سایر ارقام مورد مطالعه بادام بود. در این شرایط کوتاه‌ترین شاخه‌های فرعی در رقم ’اسکندر‘ (۲۹/۴۷ سانتی‌متر) مشاهده گردید. در همه ارقام مورد مطالعه طول شاخه با افزایش شدت تنش خشکی کاهش معنی‌داری داشته است. تحت تنش شدید خشکی بیشترین طول شاخه در رقم ’GN‘ ثبت گردید وکمترین طول شاخه در رقم ’مامایی‘ مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با ارقام ’شاهرود۱۳‘، ’ربیع‘، ’صبا‘، ’شاهرود۷‘، ’شاهرود۶‘ و ’اسکندر‘ نداشتند. بررسی نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد بیشترین کاهش در طول شاخه در ارقام ’شاهرود۶‘، ’شاهرود۱۳‘، ’ربیع‘ و ’شاهرود۷‘ تحت تنش خشکی ثبت است که به ترتیب ۴۰/۴۸، ۴۰/۱۴، ۳۹/۷۳ و ۳۹/۲۴ درصد کمتر از شرایط بدون تنش بود. تحت تنش خشکی، طول شاخه در ارقام ’GN‘، ’شاهرود۸‘ و ’شاهرود۱۲‘ نسبت به سایر ارقام کاهش کمتری داشت (جدول ۴). تعداد میانگره‌ها در شاخه‌های فرعی بین ارقام مختلف تفاوت معنی‌داری نشان دادند و بیشترین تعداد میانگره در شاخه‌های فرعی در شرایط نرمال آبیاری و تنش خشکی به ترتیب در ارقام ’شاهرود۸ و۱۲‘ مشاهده شد. در همه ارقام بادام تعداد میانگره‌ها در شاخه‌های فرعی در تمام سطوح تنش بیشتر از شرایط بدون تنش بود و بیشترین تعداد میانگره‌ها در گیاهان رشد یافته تحت تنش متوسط خشکی (۳۰ درصد FC) ثبت گردید. ارقام ’ربیع‘ (۵۱/۵۸ درصد)، ’شاهرود۱۳‘ (۴۹/۹۹ درصد)، ’صبا ‘ (۴۸/۳۹ درصد) و ’مامایی‘ (۴۶/۲۸) بیشترین افزیش در تعداد میانگره‌های شاخه‌های فرعی تحت تنش متوسط را داشتند (جدول ۴).

تعداد شاخه‌های جانبی نقش مهمی در تعیین تعداد برگ‌ها و در نتیجه میزان فتوسنتز دارند و بررسی تعداد و طول شاخه‌های فرعی در شرایط تنش خشکی می‌تواند از اهمیت ویژه‌ای برخوردار باشد. تنش خشکی باعث کاهش در تعداد و طول شاخه‌های فرعی نهال‌های بادام شد و این دو صفت کاملاً تحت تأثیر نوع رقم مورد مطالعه بود (جدول ۴). موسوی و همکاران (Mousavi *et al.*, 2009) با بررسی تأثیر تنش خشکی روی دانهال ۵ رقم بادام (’مامایی‘، ’ربیع‘، سفید، ’شاهرود ۱۲ و ۲۱‘) گزارش کردند که تنش خشکی به طور معنی‌داری تعداد و طول شاخه‌های فرعی را تحت تأثیر قرار داده است. ارزانی و ارجی (Arzani and Arji, 2000) در بررسی واکنش گیاهان جوان زیتون به تنش آبی گزارش کردند که با کاهش آبیاری تعداد شاخه‌های فرعی و رشد قطری دانهال‌های زیتون به طور معنی‌داری کاهش یافت. یکی از دلایل کاهش رشد در شرایط تنش آبی ممکن است به دلیل بر هم خوردن تعادل هورمونی گیاه باشد. تنش آبی در گیاه سبب افزایش هورمون آبسزیک اسید و کاهش ایندول استیک اسید و سایتوکنین می‌شود که ممکن است منجر به کاهش رشد نسبت به شرایط طبیعی گردد (Ahanger *et al.*, 2017).

در اثر تنش خشکی، تبادلات روزنه‌ای کاهش یافته و موجب کاهش اسیمیلاسیون کربوهیدرات‌ها می‌شود که این امر نیز می‌تواند برفاکتورهای رشدی اثرگذار باشد (Martínez-García *et al.*, 2020; Fulton *et al.*, 2014). تانکاری و همکاران (Tankari *et al.*, 2021) کاهش رشد تحت تأثیر تنش خشکی را به افزایش شدت تنفس گیاه نسبت داده‌اند. با افزایش شدت تنش خشکی، میزان تنفس میتوکندریایی سلول‌های گیاهی افزایش یافته و در نتیجه آن کربوهیدرات‌های بیشتری مصرف می‌شود که این تغییرات می‌تواند در کاهش فاکتورهای رشد تأثیر داشته باشد.

جدول ٤- طول شاخه‌های فرعی، تعداد میانگره شاخه‌های فرعی و سطح برگ ارقام مختلف بادام تحت تنش خشکی

Table 4- The sub-branch length, number of sub-branch internode and leaf area of different almond cultivars under drought stress

Cultivar رقم	طول شاخه فرعی Sub-branch length (cm)				تعداد میانگره شاخه‌های فرعی No. of internode of sub-branch				سطح برگ Leaf area (cm^2)			
	شاهد 75% FC	تنش ملایم 50% FC	تنش متوسط 30% FC	تنش شدید 10% FC	شاهد 75% FC	تنش ملایم 50% FC	تنش متوسط 30% FC	تنش شدید 10% FC	شاهد 75% FC	تنش ملایم 50% FC	تنش متوسط 30% FC	تنش شدید 10% FC
ربیع (Rabi)	35.02 de	26.60 g	24.65 gh	21.11 i	15.45 n	19.49 kl	31.91 def	23.92 hi	20.55 de	12.56 i	11.92 ij	8.05 m
شاهرود ۱۳ (Shahrood 13)	32.26 ef	29.06 fg	22.58 h	19.31 ij	13.36 o	19.40 kl	26.70 gh	22.67 j	17.29 f	9.88 kl	9.70 kl	7.35 m
شاهرود ۲۱ (Shahrood 21)	36.13 de	35.31 de	32.26 ef	23.02 h	18.57 klm	26.03 gh	31.70 def	30.54 ef	20.61 de	12.19 i	10.79 ijk	7.49 m
مامایی (Mamaei)	30.49 f	25.15 gh	22.82 h	19.05 ij	15.91 n	18.90 klm	29.62 f	25.41 ghi	19.22 e	11.83 ij	10.84 ijk	7.46 m
آیدین (Aidin)	40.63 cd	37.27 de	36.18 de	31.02 f	26.33 gh	27.61 gh	35.75 d	32.25 de	23.42 d	16.23 fg	16.18 fg	10.54 ijk
شاهرود ۱۲ (Shahrood 12)	42.61 c	42.38 c	39.05 d	35.12 de	30.87 ef	35.07 d	42.31 a	39.46 b	23.14 d	20.73 de	16.66 fg	11.28 ij
صبا (Saba)	29.94 f	29.52 fg	21.91 hi	20.89 i	14.52 no	21.36 jk	28.12 g	23.50 hi	15.86 g	10.84 ijk	10.72 ijk	7.37 m
شاهرود ۷ (Shahrood 7)	35.72 de	35.3 de	29.68 fg	21.71 hi	23.83 hi	27.03 gh	39.16 b	34.58 de	19.08 e	14.49 h	11.52 ij	7.35 m
شاهرود ۸ (Shahrood 8)	42.39 c	39.56 d	36.64 de	35.11 de	31.14 def	33.24 de	40.79 ab	37.08 c	19.06 e	14.17 h	13.66 hi	9.38 kl
شاهرود ۱۰ (Shahrood 10)	39.28 d	35.58 de	33.51 ef	31.02 f	19.33 kl	21.32 jk	30.29 ef	28.62 g	31.81 c	18.03 ef	17.35 f	16.10 fg
شاهرود ۶ (Shahrood 6)	35.05 de	30.29 f	26.11 g	20.86 i	25.08 ghi	29.15 f	36.83 c	34.71 d	16.62 fg	9.81 kl	8.43 m	5.43 mn
اسکندر(Eskandar)	29.47 fg	25.21 gh	27.18 g	21.00 i	18.74 klm	21.78 jk	24.46 hi	23.46 hi	19.87 de	13.42 hi	12.85 i	6.99 mn
آراز (Araz)	32.78 ef	30.70 f	29.31 fg	23.76 h	20.19 k	21.65 jk	31.75 def	27.37 gh	14.78 h	9.24 kl	9.13 kl	6.88 mn
GN	55.95 a	53.55 a	51.07 b	47.95 bc	24.00 hi	26.24 gh	30.92 ef	29.29 f	37.76 a	33.23 b	30.52 c	21.20 de

در هر صفت و گروه مقایسه شده، تیمارهای با حروف یکسان اختلاف معنی‌داری با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

Values followed by the same letter in each trait have no significant difference based on Duncan'smultiple range test ($p\leq 0.05$)

در پژوهش حاضر تعداد میانگره شاخه‌ها تحت سطوح مختلف تنش بیشتر از شرایط بدون تنش بود و بیشترین افزاش در تعداد میانگره در نهال‌های رشد یافته در سطح تنش متوسط (۳۰ درصد FC) مشاهده گردید. گیاهان تحت تنش خشکی با کاهش روند انگیزش برگ‌های جدید، مکانیزمی در جهت فرار از خشکی ایجاد می‌کنند. بنابراین کاهش فاصله میانگره‌ها و در نتیجه افزایش تعداد میانگره‌ها جهت کاهش تعداد برگ‌ها بوده است. در اثر تنش خشکی آماس سلولی کاهش یافته و در نتیجه باعث کاهش در رشد طولی و تقسیم سلولی می‌شود و مجموع این عوامل باعث کاهش رشد عمومی گیاه از جمله کاهش فواصل میانگره‌ای می‌شود. این نتایج با گزارشات فولتون و همکاران (Fulton *et al.*, 2014)؛ پروانه و افشاری (Parvaneh and Afshari, 2013) مطابقت دارد.

نتایج تجزیه واریانس سطح برگ در تیمارهای مورد بررسی بیانگر اثر معنی‌دار نوع رقم، سطح تنش خشکی و اثرات متقابل آن‌ها بر سطح برگ بوده است. سطح برگ نهال‌های بادام در طول دو سال مورد مطالعه نیز تغییر معنی‌داری داشت (جدول ۲). تنش خشکی اثر معنی‌داری در کاهش سطح برگ در همه ارقام مورد مطالعه بادام داشت و بیشترین کاهش در شدیدترین سطح تنش مشاهده گردید. رقم 'GN' بیشترین سطح برگ را در شرایط بدون تنش و همچنین سطوح مختلف تنش خشکی داشت. در شرایط بدون تنش، کمترین سطح برگ در رقم 'آراز' (۱۴/۷۸ سانتی‌متر مربع) ثبت گردید و در سطح شدید خشکی (۱۰ درصد FC) رقم 'شاهرود۶' کمترین سطح برگ را داشت. در تیمار ۱۰ درصد FC (تنش شدید)، ارقام 'شاهرود۶'،'اسکندر'، 'شاهرود۲۱'،'شاهرود۷'، 'مامایی' و 'ربیع' بیش از ۶۰ درصد کاهش در سطح برگ را داشتند با این‌حال ارقام 'GN'، 'شاهرود۸' و 'شاهرود ۱۰' به ترتیب کمترین کاهش سطح برگ را در واکنش به تنش شدید خشکی نشان دادند (جدول ۴).

رشد شاخساره‌ها در مقایسه با ریشه‌ها نسبت به تنش آبی حساس‌تر است، چون قسمت‌های هوایی درخت بیشتر در معرض اثرات دهیدراسیون محیطی می‌باشد (Chai *et al.*, 2016). تحت تنش خشکی، کاهش توسعه و تقسیم سلولی موجب کاهش تعداد و سطح برگ می‌گردد که منجر به کاهش سطح جذب کننده نور و در نتیجه کاهش رشد می‌شود (Palasciano *et al.*, 2013). کاهش رشد گیاه در تنش شدید خشکی به این دلیل رخ می‌دهد که گیاه قادر نیست شیب پتانسیل آب بین نقطه رشد برگ و آوند چوبی را حفظ کند، بنابراین نمی‌تواند آبرسانی به سلول‌های در حال رشد را حفظ کند (Khoyerdi *et al.*, 2016). این تغییرات متابولیسمی گیاه در واکنش به شرایط نامساعد محیطی پیری برگ‌ها را تسریع می‌کنند (Mousavi *et al.*, 2009). از طرفی مقاومت مکانیکی خاک با خشک شدن خاک افزایش می‌یابد و این حالت منجر به کاهش رشد می‌شود (Chai *et al.*, 2016).

عناصر غذایی

تجزیه واریانس غلظت عناصر پرمصرف و کم‌مصرف در برگ نهال‌های بادام نشان داد که مقدار هر یک از عناصر نیتروژن، پتاسیم، فسفر، آهن، منگنز و روی به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر اثرات متقابل رقم و تنش خشکی قرار داشته است. مقدار عناصر نیتروژن، فسفر، آهن، منگنز و روی در طول دو سال تغییر معنی‌داری داشتند و اثر سال تنها بر مقدار پتاسیم معنی‌دار نبود. بر اساس نتایج حاصل اثر متقابل تیمارهای مورد مطالعه سال، رقم و تنش خشکی تنها بر مقدار عناصر روی و منگنز معنی‌دار بوده است (جدول ۵).

نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثرات متقابل رقم و تنش خشکی نشان داد که تنش خشکی موجب کاهش معنی‌دار مقدار نیتروژن در ارقام مختلف بادام گردید. اگرچه مقدار نیتروژن در برگ‌های ۱۴ رقم بادام مورد مطالعه تفاوت قابل توجهی نداشت ولی بیشترین مقدار نیتروژن در شرایط بدون تنش (۲/۵۱ درصد) و تنش شدید خشکی (۲/۱۵ درصد) در برگ‌های رقم 'GN' حاصل شد. در ارقام 'شاهرود۱۳'،'ربیع'،'شاهرود۲۱'، 'مامایی'، 'شاهرود۱۲'و 'شاهرود۶' تحت تنش شدید خشکی بیش از ۳۰ درصد مقدار نیتروژن در مقایسه با شرایط فاقد تنش کاهش داشت. کمترین کاهش در مقدار نیتروژن برگ در ارقام 'GN' و 'شاهرود۱۰' مشاهده شد که در تیمار ۱۰ درصد FC مقدار نیتروژن به ترتیب ۱۴/۳۴ و ۱۵/۴۵ درصد کمتر از تیمار ۷۰ درصد FC بود (شکل ۴-A).

در شرایط نرمال آبیاری مقدار فسفر در رقم 'GN' (۰/۲۹۸ درصد) بیشتر از سایر ارقام بود و کمترین مقدار فسفر (۰/۱۹۹ درصد) در رقم 'شاهرود۱۳' اندازه‌گیری شد. تنش خشکی سبب کاهش معنی‌دار مقدار فسفر برگ‌های ارقام مختلف بادام گردید و میزان کاهش فسفر در سطح تنش شدید خشکی بیشتر از سایر تیمارها بود. در شرایط تنش خشکی بیشترین (۰/۲۳۶ درصد) و کمترین (۰/۱۰۴ درصد) مقدار فسفر به ترتیب در ارقام 'GN' و 'ربیع' حاصل شد. رقم 'ربیع' ۵۶/۷۹ درصد کاهش فسفر در تنش شدید نسبت به شاهد (۷۰ درصد FC) داشته است که نسبت به ارقام دیگر مورد بررسی بیشتر بود (شکل ۴-B). بر اساس نتایج حاصل از اندازه‌گیری میزان پتاسیم در برگ‌های ارقام مورد مطالعه بادام، بالاترین میزان پتاسیم (۱/۴۵ درصد) در برگ‌های رقم 'مامایی' ثبت شد. با افزایش شدت تنش خشکی مقدار پتاسیم در برگ‌های ارقام مورد مطالعه بادام روند افزایشی نشان داد و بیشترین افزایش در ارقام 'شاهرود۸' (۱۰/۳۵ درصد)، 'شاهرود۱۲' (۱۰/۱۱ درصد) و 'GN' (۱۰/۱۵ درصد) بود. تحت تنش شدید خشکی بیشترین مقدار پتاسیم (۱/۵۶ درصد) در

ارقام 'شاهرود۸' و 'GN' حاصل شد (شکل ۴-C). مقدار آهن در برگ نهال‌های بادام تفاوت معنی‌داری داشته است و در شرایط بدون تنش بیشترین (۱۵۱/۲۲ میلی‌گرم در کیلوگرم) و کمترین (۱۰۶/۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) مقدار عنصر آهن به‌ترتیب در ارقام 'GN' و 'مامایی' حاصل شد. افزایش شدت تنش خشکی، موجب افزایش معنی‌دار مقدار آهن گردید و بیشترین مقدار آهن در سطوح مختلف خشکی در رقم 'GN' با مقدار ۱۶۲/۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ثبت شد و رقم 'اسکندر' کمترین مقدار آهن را تحت تنش خشکی داشت. بسته به نوع رقم، بیشترین میزان افزایش عنصر آهن در واکنش به تنش خشکی در تیمارهای ۳۰ درصد و ۱۰ درصد ظرفیت زراعی ثبت گردید. میزان افزایش مقدار آهن در واکنش به تنش خشکی در ارقام 'GN'، 'مامایی' و 'شاهرود۸' بیشتر از سایر ارقام بود و کمترین مقدار افزایش در ارقام 'شاهرود۱۰' و 'شاهرود۲۱' ثبت گردید (شکل ۴-D).

بررسی اثر متقابل سال، رقم و تنش خشکی بر مقدار عنصر منگنز نشان داد که مقدار این عنصر در ارقام مورد مطالعه بادام تحت سطوح مختلف خشکی در سال دوم آزمایش کمتر از سال اول بود. مقدار منگنز در همه ارقام مورد مطالعه تحت تنش خشکی روند کاهشی داشته است و مقدار این کاهش در بین ارقام بادام تفاوت معنی‌داری نشان داد. بنابراین ارقام رشد یافته در شرایط بدون تنش در سال اول آزمایش بیشترین مقدار عنصر منگنز را داشتند در حالی‌که کمترین مقدار این عنصر در سال دوم آزمایش و در شرایط تنش شدید خشکی (۳۰ درصد FC) حاصل گردید. در شرایط بدون تنش بیشترین مقدار عنصر منگنز (۳۵/۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) در برگ‌های رقم 'ربیع' در سال اول آزمایش ثبت گردید و کمترین مقدار (۲۶/۷۹ میلی‌گرم در کیلوگرم) در سال دوم آزمایش در رقم 'شاهرود۶' به‌دست آمد.

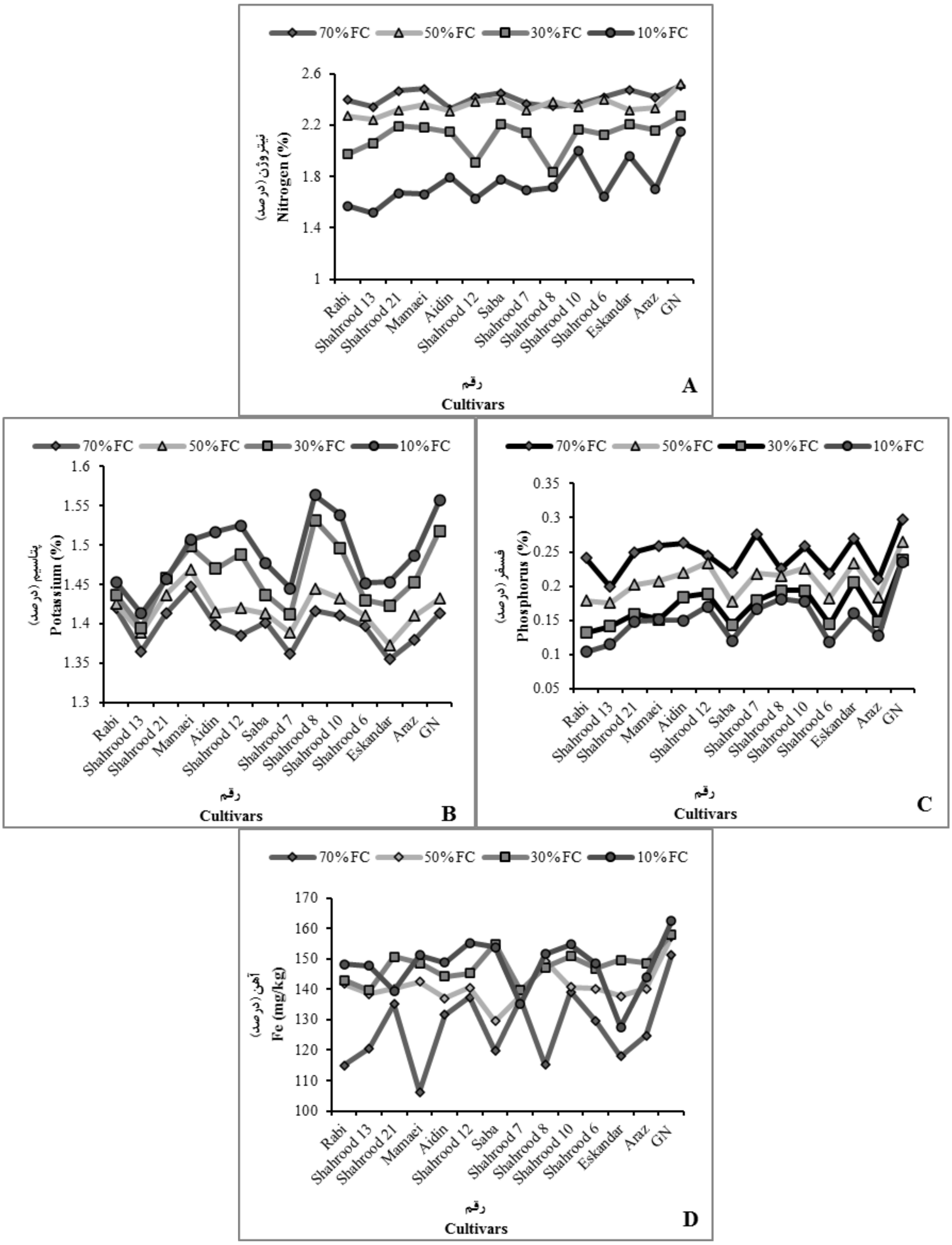
جدول ۵- تجزیه واریانس غلظت عناصر پرمصرف و کم مصرف در برگ ارقام مختلف بادام تحت تنش خشکی در دو سال مورد مطالعه

Table 5- ANOVA for the leaf macro and micro elements of different almond cultivars under drought stress in two studied years

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean squares					
		نیتروژن Nitrogen	پتاسیم Potassium	فسفر Phosphorus	آهن Iron	منگنز Manganese	روی Zinc
سال Year	1	0.504 **	0.001 ns	0.006 **	993.541 **	87.296 **	24.145 **
تکرار (سال) Replication (Year)	4	0.831 **	0.001 **	0.0002 *	190.388 ns	2.130 ns	1.629 ns
خشکی Drought	3	0.774 **	0.142 **	0.143 **	7883.056 **	1015.932 **	692.449 **
سال × خشکی Drought × Year	3	0.086 **	0.00008 ns	0.0003 *	62.976 ns	3.334 ns	1.242 ns
خطای اصلی Main error	12	1.381	0.0001	0.0003	58.124	2.643	1.017
رقم Cultivar	13	0.174 **	0.023 **	0.019 **	804.613 **	70.988 **	68.413**
سال × رقم Cultivar × Year	13	0.006 ns	0.0001 ns	0.00002 ns	87.442 ns	5.199 ns	3.694 **
خشکی × رقم Drought × Cultivar	39	0.105 *	0.002 **	0.001 **	320.140 **	14.038 **	14.201 **
سال × خشکی × رقم Drought × Year × Cultivar	39	0.001 ns	0.00007 ns	0.00001 ns	93.894 ns	4.558*	1.693 *
خطای فرعی Minor Error	208	0.009	0.0002	0.00008	89.944	3.100	1.112

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

ns Non-significant, ** and *: Significant at 1% and 5% of probability levels



شکل ٤- غلظت عناصر غذایی پرمصرف و کم‌مصرف در برگ ارقام مختلف بادام تحت سطوح مختلف تنش خشکی

(A: نیتروژن؛ B: پتاسیم؛ C: فسفر؛ D: آهن)

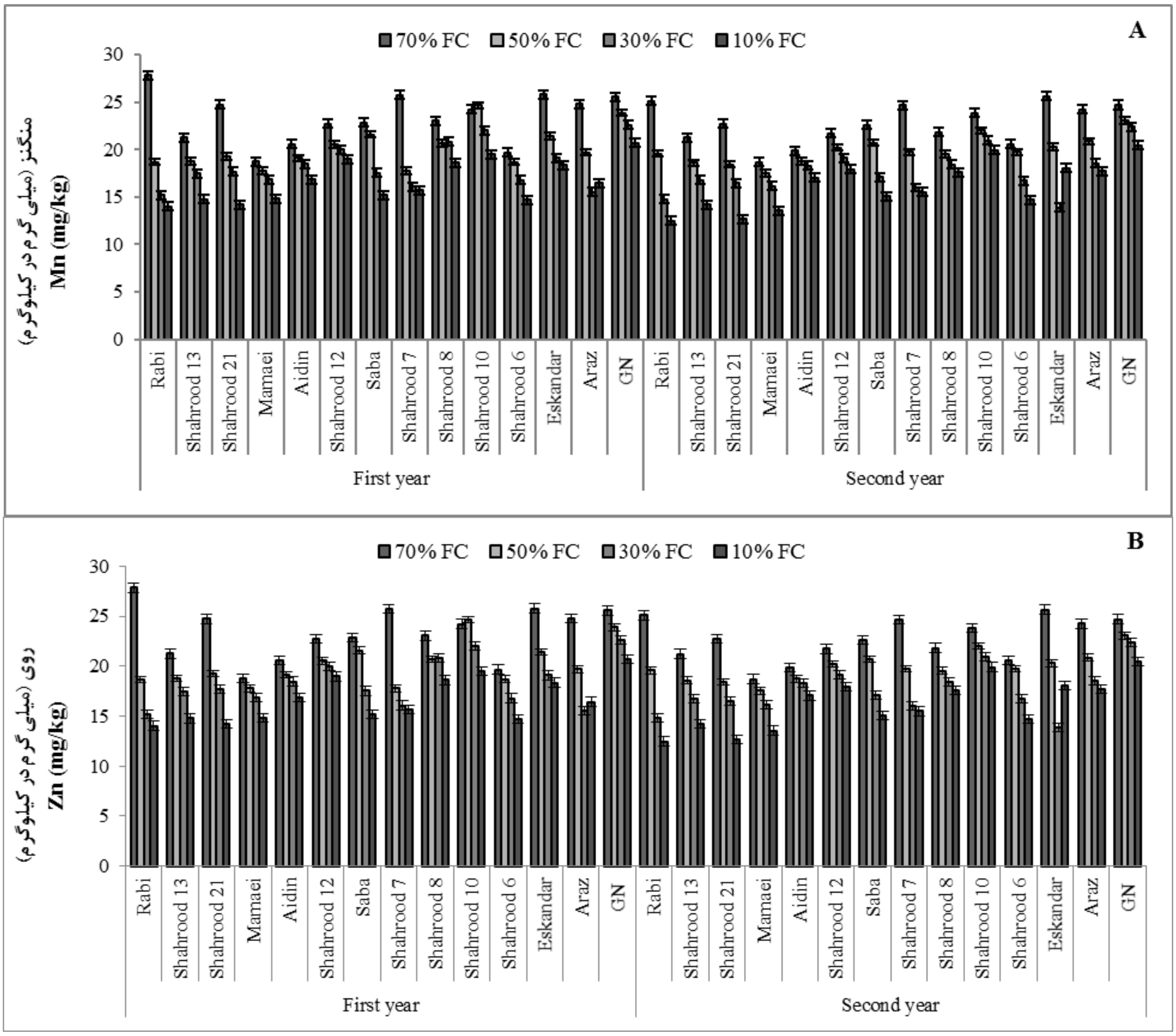
Figure 4- The content of leaf macro and micro elements of different almond cultivars under drought stress

(A: Nitrogen; B: Potassium; C: Phosphorus; D: Iron)

در بالاترین سطح خشکی بیشترین مقدار منگنز (۲۷/۱۵ میلی‌گرم در کیلوگرم) در رقم 'GN' و سال اول آزمایش بود و کمترین مقدار این عنصر (۱۹/۷۷ میلی‌گرم در کیلوگرم) در رقم 'صبا' و سال دوم ثبت گردید. در تنش شدید خشکی مقدار کاهش منگنز در ارقام

’ربیع‘،’شاهرود۲۱‘ و ’مامایی‘ نزدیک به ۳۵ درصد بوده است که بیشتر از سایر ارقام بود. کمترین کاهش در مقدار این عنصر در واکنش به تنش خشکی در ارقام ’شاهرود ۱۰‘ و ’اسکندر‘ بود که مقدار منگنز تحت شدید خشکی در این ارقام به ترتیب ۱۳/۶۳ و ۱۵/۸۷ درصد کمتر از شرایط فاقد تنش بود (شکل ۵-A).

بر اساس نتایج به‌دست آمده در شرایط بدون تنش، بیشترین و کمترین مقدار عنصر روی به‌ترتیب در ارقام ’ربیع‘ (۲۷/۸۳میلی‌گرم در کیلوگرم) در سال اول آزمایش و ’مامایی‘ (۱۸/۶۹ میلی‌گرم در کیلوگرم) در سال دوم آزمایش مشاهده گردید. اندازه‌گیری مقدار روی در برگ نهال‌های بادام نشان دهنده کاهش مقدار این عنصر با افزایش شدت کم‌آبی است. رقم ’ربیع‘ با بیشترین مقدار عنصر روی در واکنش به تنش شدید خشکی کاهش بیشتری در مقایسه با سایر ارقام داشت و مقدار روی در برگ‌های این رقم با کاهش ۴۹/۹۷ درصدی به ۱۲/۴۶ میلی‌گرم در کیلوگرم در شرایط تنش شدید خشکی (۱۰ درصد FC) رسید. رقم ’GN‘ بیشترین مقدار عنصر روی را در شرایط تنش شدید خشکی در هر دو سال مورد مطالعه داشت. کمترین تغییر در مقدار عنصر روی در واکنش به تنش خشکی در ارقام ’آیدین‘ و ’شاهرود۱۲‘ ثبت گردید (شکل ۵-B).



شکل ۵- اثر تنش خشکی بر غلظت عناصر منگنز (A) و روی (B) در برگ ارقام مختلف بادام در دو سال مورد مطالعه

Figure 5- The effect of drought stress on leaf manganese (A) and zinc (B) content of different almond cultivars in two studying years

بررسی نتایج به‌دست آمده از این مطالعه نشان داده است که افزایش شدت تنش کم‌آبی موجب کاهش قابل توجه مقدار نیتروژن (شکل ۴-A)، فسفر (شکل ۴-C)، منگنز (شکل ۵-A) و روی (شکل ۵-B) در برگ‌های ارقام مورد مطالعه بادام شد و از طرف دیگر مقدار پتاسیم (شکل ۴-B) و آهن (شکل ۴-D) در گیاهان رشد یافته تحت تنش خشکی بیشتر از شرایط نرمال آبیاری بود. تغییر مقدار عناصر غذایی تحت تنش خشکی در نهال‌های بادام پیشتر توسط فتحی و همکاران (Fathi *et al*., 2019)؛ موسوی و همکاران (Mousavi *et al*., 2009) گزارش شده است اگرچه روند تغییر مقدار هر یک از عناصر مورد مطالعه در ارقام مختلف متفاوت بوده است. در شرایط تنش خشکی، کاهش دسترسی گیاه به آب منجر به کاهش رشد ریشه‌ها شده و افزایش تجمع نمک یون سدیم منجر به اختلالات تغذیه‌ای در گیاه می‌گردد (Martínez-García *et al*., 2020). بر هم خوردن تعادل یونی سبب ایجاد اختلال در جذب عناصر مهم و ضروری برای عملکرد سیستم‌های فتوسنتزی و تنفس گیاه می‌گردد و از فعالیت برخی از آنزیم‌ها ممانعت می‌کند، که در نهایت اثرات مخربی را در متابولیسم سلولی به جا می‌گذارد (Jiménez *et al*., 2013).

کاهش نیتروژن و فسفر در سطوح بالای تنش کم‌آبی می‌تواند به علت کاهش تراوایی ریشه گیاه، کاهش فعالیت میکروبی خاک و کاهش جذب این عناصر به دلیل رشد کم ریشه‌ها به دلیل دسترسی اندک به آب باشد (Bogati and Walczak, 2022). از طرف دیگر کمبود آب موجب تغییرات ساختمانی در ساقه، ریشه و برگ گیاهان شده به نحوی که با کاهش دسترسی گیاه به آب، دستجات آوندی کمتر و با قطر کوچکتری تولید می‌شوند که این شرایط میزان جذب و تجمع عناصر غذایی را در گیاهان تحت تأثیر قرار می‌دهد (Marschner, 2011). پتاسیم نقش مهمی در حفظ آماس سلولی، تنظیم حرکت روزنه‌ها و فعال کردن آنزیم‌ها دارد (Marschner, 2011). تولید زیاد رادیکال‌های آزاد اکسیژن ایجاد شده بر اثر تنش به آسیب غشاء منجر می‌شود و به‌دنبال آن نشت پتاسیم از سلول‌ها به دلیل فعال کردن کانال‌های تراوش پتاسیم به خارج از سلول رخ می‌دهد. با این وجود افزایش مقدار پتاسیم در شرایط نامساعد محیطی ممکن است واکنش دفاعی گیاه جهت حفظ آماس سلولی و ادامه حیات گیاه باشد (Isaakidis *et al*., 2004) که در پژوهش حاضر افزایش پتاسیم (شکل ۴-B) در تنش شدید خشکی ممکن است در این راستا باشد.

تحت شرایط کم‌آبی علی‌رغم وجود مواد معدنی در خاک، گیاه ممکن است دچار کمبود برخی مواد ضروری شود. قابلیت استفاده اغلب عناصر کم مصرف به pH و هدایت الکتریکی محلول خاک و ماهیت محل‌های پیوند روی سطوح ذرات آلی و معدنی خاک بستگی دارد. به همین دلیل رابطه بین خشکی خاک و عناصر غذایی به‌ویژه عناصر کم‌مصرف پیچیده است (Marschner, 2011). بسته به نوع رقم، بافت خاک، شدت تنش و شرایط محیطی ممکن است غلظت عناصر کم مصرف در اندام‌های هوایی گیاه افزایش، کاهش و یا بدون تغییر بماند (Mousavi *et* Fathi *et al*., 2019 ; *al*., 2009). آهن، منگنز و روی از عناصر مهم درگیر در واکنش‌های اکسایش-احیا می‌باشند. در پژوهش حاضر علی‌رغم کاهش مقدار روی و منگنز، مقدار آهن تحت تنش خشکی در برگ‌های ارقام مختلف بادام افزایش یافت. به‌نظر می‌رسد افزایش مقدار آهن در رابطه با افزایش فعالیت سیستم دفاعی گیاه جهت مقابله با تنش اکسیداتیو و حفظ رشد و عملکرد گیاه در این شرایط باشد (Bogati and Walczak, 2022). افزایش غلظت آهن تحت تنش خشکی می‌تواند ناشی از دو عامل باشد: یکی، افزایش غلظت یون‌های محلول در آب خاک این عنصر بر اثر فرآیند تبادل سدیم با Fe^{2+} و Fe^{3+} که باعث آزادسازی این عناصر به محلول خاک می‌شود. دیگری، کاهش ماده خشک بخش هوایی پس از اعمال تنش خشکی است که بر اثر وقوع پدیده تغلیظ، غلظت آهن در بخش‌های هوایی گیاه افزایش می‌یابد (Marschner, 2011).

پاسخ‌های رشدی و فیزیولوژیکی گیاهان به رطوبت پایین خاک به ژنوتیپ گیاه بستگی دارد و به نظر می‌رسد برخی ژنوتیپ‌ها و ارقام بادام می‌توانند رشد خود را در طول دوره تنش حفظ نمایند. با این وجود در تنش‌های شدید، هدایت انرژی گیاه جهت تکمیل چرخه زندگی، منجر به کاهش رشد گیاه می‌گردد (Bodner *et al*., 2015). براساس نتایج حاصل از این پژوهش، تغییر صفات مورفولوژیکی و عناصر مورد ارزیابی در واکنش به سطوح مختلف تنش خشکی متفاوت بود. این تفاوت‌ها بیانگر تأثیر ویژگی‌های ژنتیکی بر رشد گیاهان تحت تنش می‌باشد که منجر به تفاوت در میزان تحمل شرایط نامساعد محیطی می‌گردد (Bhusal *et al*., 2019). بندر و همکاران (Bodner *et al*., 2015) گزارش کرده‌اند که ارقام مختلف بادام با مکانیزم‌های مختلف ساختاری و تغییرات فیزیولوژیکی اثرات تنش را تنظیم و جبران می‌نمایند.

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش تنش خشکی باعث کاهش معنی‌دار شاخص‌های رشد و غلظت عناصر غذایی گردید، اگرچه عکس‌العمل ارقام مورد مطالعه بادام نسبت به سطوح مختلف تنش خشکی متفاوت بود. در این پژوهش ارقام 'GN'، 'شاهرود۸' و 'شاهرود۱۲' از نظر شاخص‌های رشدی شامل ارتفاع نهال، قطر ساقه، رشد تاج، رشد شاخه‌های فرعی و غلظت عناصر پرمصرف و کم

مصرف در مقایسه با سایر ارقام در شرایط تنش خشکی مقاومت بیشتری داشتند و کم‌تر تحت تأثیر شدت‌های بالای کم‌آبی قرار گرفتند. بنابراین می‌توان از ارقام مزبور در مطالعات آینده به‌منظور ارزیابی امکان کشت این ارقام در مناطق با مشکل کم‌آبی استفاده کرد.

منابع

1. Ahanger, M.A., Akram, N.A., Ashraf, M., Alyemeni, M.N., Wijaya, L., & Ahmad, P. (2017). Signal transduction and biotechnology in response to environmental stresses. *Biologia Plantarum, 61*(3), 401-416. https://doi.org/10.1007/s10535-016-0683-6
2. Arzani, K., & Arji, I. (2000). Response of young olive plants cv Local Roghani Roodbar to water stress and deficit irrigation. *Seed and Plant*, *16*(1), 99-109. (In Persian)
3. Barzegar, K., Yadollahi, A., Imani, A., & Ahmadi, N. (2012). Responses to drought stress of almond cultivars and genotypes grown under field conditions. *International Journal of Agriculture: Research and Review, 2*(3), 205-210.
4. Bhusal, N., Han, S.G., & Yoon, T.M. (2019). Impact of drought stress on photosynthetic response, leaf water potential, and stem sap flow in two cultivars of bi-leader apple trees (*Malus× domestica* Borkh.). *Scientia Horticulturae*, *246*, 535-543. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.11.021
5. Bodner, G., Nakhforoosh, A., & Kaul, H.P. (2015). Management of crop water under drought: A review. *Agronomy for Sustainable Development*, *35*(2), 401-442. https://doi.org/10.1007/s13593-015-0283-4
6. Bogati, K., & Walczak, M. (2022). The Impact of drought stress on soil microbial community, enzyme activities and plants. *Agronomy*, *12*, 189. https://doi.org/10.3390/agronomy12010189
7. Chai, Q., Gan, Y., Zhao, C., Xu, H.L., Waskom, R.M., Niu, Y., & Siddique, K.H. (2016). Regulated deficit irrigation for crop production under drought stress. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, *36*, 3. https://doi.org/10.1007/s13593-015-0338-6
8. Condon, A.G. (2020). Drying times: plant traits to improve crop water use efficiency and yield. *Journal of Experimental Botany*, *71*(7), 2239-2252. https://doi.org/10.1093/jxb/eraa002
9. De Herralde, F. (2000). Integral study of the eco-physiological response to water stress: characterization of the almond varieties. *Nucis–Newsletter*, *9*, 20-21.
10. De Herralde, F., Savé, R., Biel, C., Batlle, I., & Vargas, F.J. (2001). Differences in drought tolerance in two almond cultivars:'Lauranne'and'Masbovera'. *Cahiers Options Méditerranéennes*, *56*, 149-154.
11. Emami, A. (1996). *Plant decomposition methods*. Vol. 1. Technical leaflet No. 982. Soil and Water. Research Institute, Tehran, Iran (In Persian)
12. Fathi, H., Amiri, M., Imani, A., Nikbakht, J., & Hajilou, J. (2019). Investigation on the changes of some biochemical traits of almond genotypes leaves under drought stress on the GN15 rootstock. *Journal of Plant Process and Function*, *8*(29), 15-30. (In Persian)
13. Fulton, A., Grant, J., Buchner, R., & Connell, J. (2014). Using the pressure chamber for irrigation management in walnut, almond and prune. http://dx.doi.org/10.3733/ucanr.8503
14. Gradzıel, T.M., Martınez-Gomez, P., Dıcenta, F., & Kester, D.E. (2001). The utilization of related *Prunus* species for almond variety improvement. *Journal-American Pomological Society*, *55*(2), 100-108.
15. Haas, J.C., Vergara, A., Serrano, A.R., Mishra, S., Hurry, V., & Street, N.R. (2021). Candidate regulators and target genes of drought stress in needles and roots of Norway spruce. *Tree Physiology, 41*(7), 1230-1246. https://doi.org/10.1093/treephys/tpaa178
16. Isaakidis, A., Sotiropoulos, T., Almaliotis, D., Therios, I., & Stylianidis, D. (2004). Response to severe water stress of the almond (*Prunus amygdalus*)'Ferragnès' grafted on eight rootstocks. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, *32*(4), 355-362.
17. Jiménez, S., Dridi, J., Gutiérrez, D., Moret, D., Irigoyen, J.J., Moreno, M.A., & Gogorcena, Y. (2013). Physiological, biochemical and molecular responses in four *Prunus* rootstocks submitted to drought stress. *Tree Physiology*, *33*, 1061-1075. https://doi.org/10.1093/treephys/tpt074
18. Karimi, S., Yadollahi, A., Arzani, K., Imani, A., & Aghaalikhani, M. (2015). Gas-exchange response of almond genotypes to water stress. *Photosynthetica*, *53*(1), 29-34. https://doi.org/10.1007/s11099-015-0070-0
19. Khoyerdi, F.F., Shamshiri, M.H., & Estaji, A. (2016). Changes in some physiological and osmotic parameters of several pistachio genotypes under drought stress. *Scientia Horticulturae, 198*, 44-51. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.11.028
20. Kim, J., Kim, K.S., Kim, Y., & Chung, Y.S. (2020). A short review: Comparisons of high-throughput phenotyping methods for detecting drought tolerance. *Scientia Agricola*, 78. https://doi.org/10.1590/1678-992X-2019-0300
21. Lindsay, W.L, & Norvell, W.A. (1978). Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese, and copper. *Soil Science Society of America Journal*, *42*, 421-428.

22. Marschner, H. (2011). *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants*. San Diego ,CA, Academic Press.
23. Martínez-García, P.J., Hartung, J., Pérez de los Cobos, F., Martínez-García, P., Jalili, S., Sánchez-Roldán, J.M., Rubio, M., Dicenta, F., & Martínez-Gómez, P. (2020). Temporal response to drought stress in several *Prunus* rootstocks and wild species. *Agronomy*, *10*, 1383. https://doi.org/10.3390/agronomy10091383
24. Méndez-Toribio, M., Ibarra-Manríquez, G., Paz, H., & Lebrija-Trejos, E. (2020). Atmospheric and soil drought risks combined shape community assembly of trees in a tropical dry forest. *Journal of Ecology*, *108*(4), 1347-1357. https://doi.org/10.1111/1365-2745.13355
25. Mousavi, S.A., Tatari, M., Mehnatkesh, A., & Haghighati, B. (2009). Vegetative growth response of young seedlings of five almond cultivars to water deficit. *Seed and Plant Improvement Journal*, *25-1*, 551-567. (In Persian)
26. Palasciano, M., Logoluso, V., & Lipari, E. (2013). *Differences in drought tolerance in almond cultivars grown in Apulia region (Southeast Italy).* In: VI International Symposium on Almonds and Pistachios 1028: 319-324.
27. Parvaneh, T., & Afshari, H. (2013). Comparative study of the response of different almond rootstocks to water stress. *International Journal of Plant Production*, *4*, 2244-2250.
28. Sorkheh, K., Shiran, B., Khodambshi, M., Rouhi, V., & Ercisli, S. (2011). In vitro assay of native Iranian almond species (*Prunus* L. spp.) for drought tolerance. *Plant Cell*, *Tissue and Organ Culture*, *105*(3), 395-404.
29. Tankari, M., Wang, C., Ma, H., Li, X., Li, L., Soothar, R.K., Cui, N., Zaman-Allah, M., Hao, W., Liu, F., & Wang, Y. (2021). Drought priming improved water status, photosynthesis and water productivity of cowpea during post-anthesis drought stress. *Agricultural Water Management*, *245*, 106565. https://doi.org/10.1016/j.agwat.2020.106565
30. Toscano, S., Ferrante, A., & Romano, D. (2019). Response of Mediterranean ornamental plants to drought stress. *Horticulturae*, *5*(1), 6. https://doi.org/10.3390/horticulturae5010006
31. Treder, W., Konopacki, P., & Mika, A. (1996). *Duration of water stress and its influence on the growth of nursery apple trees planted in containers under plastic tunnel conditions*. In: II International Symposium on Irrigation of Horticultural Crops 449: 541-544.
32. Yadollahi, A., Arzani, K., Ebadi, A., Wirthensohn, M., & Karimi, S. (2011). The response of different almond genotypes to moderate and severe water stress in order to screen for drought tolerance. *Scientia Horticulturae*, *129*, 403-413. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2011.04.007
33. Zokaee Khosroshahi, K. (2013). *Investigation of drought tolerance in five Iranian almond species based on the important morphological and physiological markers* (Doctoral dissertation, Thesis for the Degree of Doctor of Philosophy in Horticulture Faculty of Agriculture Department of Horticultural Sciences of Bu-Ali Sina University).

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

CC BY

Research Article
Vol. 37, No. 2, Summer 2023, p. 541-560

Evaluation of Humic Acid on Chromium Toxicity, Accumulation and Translocation in Lettuce (*Lactuca sativa* L. var. *longifolia*)

A. Omidi[1], A.R. Astaraei[2]*, H. Emami[3]

Received: 09-08-2022 Revised: 04-09-2022 Accepted: 11-10-2022 Available Online: 11-10-2022	**How to cite this article:** Omidi, A., Astaraei, A.R,. & Emami, H. (2023). Evaluation of humic acid on chromium toxicity, accumulation and translocation in lettuce (*Lactuca sativa* L. var. longifolia). *Journal of Horticultural Science, 37*(2), 541-560. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/JHS.2022.78131.1188

Introduction

Chromium pollution of the soil due to natural processes or industrial activities such as metal refining, chrome plating, stainless-steel production, leather tanning, and chemical dye production is a globle environmental issue. Excessive soil Cr levels cause detrimental effects on plant physiological processes including_photosynthesis, water relations and mineral nutrition as well as the growth of roots, stems and leaves, which may decrease the biomass and yield of plants. Currently, soil application of organic amendments particularly humic acid seems to be an effective procedure to enhance relative plant tolerance to Cr stress. Humic acids are complexes of heterogeneous poly electrolytes with abundant functional groups that act as a weak poly electrolytic acid. Their structures, the degree to which these functional groups are protonated or ionized and environmental conditions influence the interaction between HA and soil pollutants. The complex compounds form by interaction of HA and heavy metals that cannot be uptaken by plants. Humic acid may play a significant role in the mobility and uptake of Cr which leads to a significant increase in plant biomass and growth. The aim of this research was to investigate the ability of humic acid to reduce Cr uptake and translocation by lettuce (*Lactuca sativa* L.) from Cr-contaminated soil.

Materials and Methods

The present study through a greenhouse pot experiment was conducted in the greenhouse of Ferdowsi university of Mashhad. The experiment was arranged in a factorial manner in a randomized complete design with three replications and treatments consisted of 3 levels of Cr (0, 25, and 50 mg kg^{-1}as $K_2Cr_2O_7$) and 3 rates of HA (0, 5 and 10 %). The soil samples were dried at room temperature, ground and sieved with a 2-mm mesh screen for further analysis. The bioavailable concentrations of Cr in the soils were assessed by DTPA. Three lettuce seedlings were grown in each pot containing five air-dried soil and watered to a near field capacity with distilled water as needed. After 100 days plant tissues were harvested, carefully washed with deionized water and the leaf, stem and root parts separated. All of them were oven-dried at 65-75 °C to constant weight and the dry weight of lettuce tissue samples was recorded. To determine the Cr concentrations, the tissues were ground, passed through a 0.3-mm sieve and digested in di-acid mixture (HNO_3:$HClO_4$). Concentrations of Cr in the digested solutions and soil extractions were determined using an Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (ICP OES). Translocation factor (TF) is determined from the ratio of the concentration of Cr in the plant's shoots compared to that in the plant's roots. Bioaccumulation factor (BAF) was evaluated as defined as the accumulated concentration of Cr in plant divided by concentration to that in respective soil. A two-way analysis of variance was done by using a statistical package, JMP version 8.0. The differences between the treatments were determined using LSD multiple range tests at significance level of $P \leq 0.05$ and $P \leq 0.001$.

1, 2 and 3- Ph.D. Student, Associate Professor and Professor, Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: astaraei@um.ac.ir)
DOI: 10.22067/JHS.2022.78131.1188

Results and Discussion

The results of the present study clearly demonstrate that all Cr treatments significantly reduced leaf, stem, shoot and root dry weights. In unamended soils, both Cr treatments alone reduced leaf, shoot, stem and root dry weights 83%, 101%, 207% and 65% (for Cr 25 mg kg^{-1}) and 194%, 219%, 355% and 92% (for Cr 50 mg kg^{-1}) respectively as compared to control. Using HA (5 and 10%) and Cr treatments (25 and 50 mg kg^{-1}), showed that leaf, shoot, stem and root dry weights were significantly increased as compared to Cr contaminated control. The lowest values of these parameters were recorded in Cr treatments without addition of HA, whereas at each Cr level, the highest values of them were obtained with application of 10% HA. The Cr concentrations in shoot and root samples significantly were affected by adding HA and Cr levels in soil. It was observed that Cr contents in shoots and roots, transfer factor and bioaccumulation factor of shoots and roots significantly increased by increasing soil Cr levels. Moreover, HA application negatively affected Cr content in shoot compared to Cr treatment alone. The interaction of chromium and humic acid caused a significant decrease in the concentration of chromium in the aerial parts, the shoot accumulation factor and a significant increase in the concentration of chromium in the roots and consequently reduced translocation factor. The highest value of Cr in shoot (47.7 mg kg^{-1}) was obtained in those plants grown in soil with addition of 50 mg kg^{-1} Cr alone, whereas at each Cr level the lowest value of Cr in shoot was found in those plants grown in soil with the application of 10% HA. HA application in soil increased Cr concentration in root compared with Cr contaminated control. The maximum Cr concentration in the root (367 mg kg^{-1}) and root bioaccumulation factor (28.5) was obtained after exposure to 50 mg kg^{-1} Cr +10% HA treatment. Also, the regression models showed that the transfer factor and shoot bioaccumulation factor decreased significantly and linearly with increasing shoot dry weight. Moreover, the regression model of shoot dry weight and shoot bioaccumulation factor was able to predict traslocation factor and shoot bioaccumulation factor with Adjusted R^2 = -0.78** and R^2 = -0.93**, respectively.

Conclusion

Results demonstrated that Cr toxicity markedly reduced plant growth parameters for instance leaf, stem, shoot and root dry weight and enhanced the concentration of Cr in shoot and root as compared to control. Humic acid application in Cr contaminated soil induced increased plant biomass, root bioaccumulation factor, Cr contents in roots and reduced Cr concentration in leaves, translocation factor and shoot bioaccumulation factor. Therefore, the application of HA specially at higher dose (10%) seems to be a cost-effective and environmentally friendly method for the restriction of Cr accumulation and its transfer from contaminated soil to edible parts of lettuce, thus helping to enhance food security.

Keywords: BAF, Heavy metals, Organic amendment, TF

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

مقاله پژوهشی
جلد ۳۷، شماره ۲، تابستان ۱٤۰۲، ص. ٥٦۰-٥٤۱

بررسی نقش اسید هیومیک برسمیت کروم و چگونگی جذب و انتقال آن در گیاه کاهو (*Lactuca sativa* L. var. longifolia)

آزاده امیدی[۱]– علیرضا آستارایی[۲]*– حجت امامی[۳]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۵/۱۸
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۶/۱۳
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۷/۱۹

چکیده

اسید هیومیک‌ها مجموعه‌ای از پلی‌الکترولیت‌های ناهمگن با گروه عاملی فراوان هستند که ممکن است به شکل قابل توجهی، نقش کلیدی در تحرک و جذب کروم موجود در خاک و در نهایت جذب توسط گیاه، ایفا کنند. پژوهش حاضر به صورت آزمایش گلخانه‌ای در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه فردوسی مشهد (مهر –دی ۱۳۹۶) با هدف بررسی تأثیر اسید هیومیک در خاک آلوده به کروم بر وزن خشک ریشه، شاخساره، ساقه و برگ، همچنین غلظت کروم در شاخساره و ریشه، فاکتور انتقال، فاکتور انباشت شاخساره و ریشه گیاه کاهو رقم 'سیاهو'؛ به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو فاکتور، ۱- سطح کروم (صفر، ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) و ۲- اسید هیومیک (صفر، ۵ و ۱۰ درصد) در سه تکرار انجام شد. نتایج نشان داد که با افزایش سطوح کروم در خاک، وزن‌های خشک برگ، شاخساره، ساقه و ریشه به ترتیب ۸۳، ۱۰۱، ۲۰۷ و ۶۵ درصد برای سطح ۲۵ میلی‌گرم کروم برکیلوگرم و ۱۹۴، ۲۱۹، ۳۵۵ و ۹۲ درصد برای سطح ۵۰ میلی‌گرم کروم بر کیلوگرم کاهش معنی‌دار داشتند. افزایش اسید هیومیک موجب افزایش وزن خشک اجزاء مختلف گیاه، تحت تنش کروم شد. افزودن کروم به خاک، غلظت کروم در شاخساره و ریشه، فاکتور انتقال، فاکتور انباشت زیستی شاخساره و ریشه را به طور معنی‌داری افزایش داد. با کاربرد سطح صفر اسید هیومیک + ۵۰ میلی‌گرم کروم بر کیلوگرم، غلظت کروم در شاخساره از ۰/۰۰۱۶ (شاهد) به ۳۷/۷ و در ریشه از ۰/۰۵۱ (شاهد) به ۳۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک و فاکتور انتقال از ۰/۰۳۲ به ۰/۱۱۸ افزایش یافت. برهمکنش کروم و اسیدهیومیک موجب کاهش معنی‌دار غلظت کروم در اندام هوایی، فاکتور انباشت شاخساره و افزایش غلظت کروم در ریشه و به‌تبع آن، کاهش فاکتور انتقال گردید؛ به‌طوری‌که بیشینه غلظت کروم در شاخساره در تیمار ۵۰ میلی‌گرم کروم بر کیلوگرم و در نبود اسید هیومیک، (۴۷/۷ میلی‌گرم در کیلوگرم) مشاهده شد؛ درحالی‌که کمترین مقدار کروم در هر تیمار کروم، با ۱۰ درصد اسید هیومیک مشاهده شد. بیشینه غلظت کروم در ریشه (۳۶۷ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن خشک) و فاکتور انباشت ریشه (۲۸/۵) در تیمار ۵۰ میلی‌گرم کروم + ۱۰ درصد اسیدهیومیک مشاهده شد. کوچک بودن فاکتور انتقال کروم نشان می‌دهد در کاهو تنها بخش اندکی از کروم از ریشه به اندام هوایی منتقل شده است و با افزودن اسیدهیومیک نیز، انتقال کروم از ریشه به اندام هوایی کاهش می‌یابد. همچنین مدل رگرسیونی نشان داد که با افزایش وزن خشک شاخساره فاکتور انتقال به طور خطی و معنی‌دار با R^2 = -۰/۷۹**، کاهش یافت. مدل رگرسیونی برازش شده وزن خشک شاخساره با فاکتور انباشت شاخساره، توانست این فاکتور را برای کروم با -۰/۹۳** = Adjusted R^2 پیش‌بینی کند. بنابراین بیشترین سطح اسیدهومیک (۱۰ درصد) بکار رفته، بیشترین تأثیرگذاری را بر پارامترهای اندازه‌گیری شده داشته و این اصلاح کننده احتمالاً به خاطر ماهیت کمپلکس‌کنندگی و احیاکنندگی با افزایش انباشت کروم در ریشه، کاهش انتقال کروم از ریشه به اندام هوایی و در نتیجه کاهش انباشت این عنصر در شاخساره موجب افزایش زیست توده هوایی و ریشه کاهو شده و توانست تا حدودی اثرات سمی کروم را تعدیل کند.

واژه‌های کلیدی: اصلاح کننده آلی، عناصر سنگین، فاکتور انباشت زیستی، فاکتور انتقال

۱، ۲ و ۳- به‌ترتیب دانشجوی دکتری، دانشیار و استاد گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: astaraei@um.ac.ir)

DOI: 10.22067/JHS.2022.78131.1188

مقدمه

آلاینده‌های فلزات سنگین یک مشکل جدی برای محیط زیست می‌باشند زیرا فعالیت‌های انسانی مانند استخراج معدن، فراوری و کاربرد این فلزات در دهه‌های گذشته به‌شدت افزایش یافته و به چالشی برای زندگی روی زمین تبدیل شده‌اند. کروم یکی از پرمصرف ترین آلاینده‌های فلزی می‌باشد که به‌عنوان یکی از ۲۰ آلاینده برتر در فهرست مواد خطرناک اولویت‌های ملی[1] امریکا در سالهای اخیر می‌باشد. ترکیبات کروم در صنایع متالورژی، آبکاری فلزات، حفاظت چوب، تولیدجوهر، رنگ، شیشه و سرامیک، دباغی چرم و صنایع نساجی و بازدارنده‌های خوردگی در آب سرد بکار می‌رود؛ منجر به آلودگی شده و ممکن است خطرات عمده‌ای روی سلامتی ایجاد کند (Dhal *et al.*, 2013) کروم خاصیت سرطان‌زایی داشته و در انسان دستگاه تنفسی، ارگان اصلی هدف برای کروم شش ظرفیتی است. قرار گرفتن در معرض کروم شش ظرفیتی به صورت مزمن استنشاقی، منجر به اثرات سوء بر دستگاه تنفسی از جمله سوراخ شدن و زخم سپتوم، برونشیت، کاهش عملکرد ریوی، ذات الریه، و خارش و درد بینی می‌شود . قرار گرفتن مزمن انسان در معرض سطوح زیاد کروم شش ظرفیتی از طریق استنشاق یا خوراکی ممکن است بر روی کبد، کلیه، دستگاه گوارش و سیستم ایمنی بدن و احتمالاً خون تأثیر بگذارد. مواجهه پوستی با کروم شش ظرفیتی ممکن است باعث درماتیت تماسی، حساسیت و زخم پوست شود (Saha *et al.*, 2011).

کروم عمدتاً در سه حالت اکسیداتیو کروم صفر ظرفیتی، سه ظرفیتی و شش ظرفیتی موجود است که پایدارترین اشکال کروم هستند. از آنجایی که کروم صفر ظرفیتی شکل فلزی‌ست، اشکال کروم سه ظرفیتی و شش ظرفیتی در خاک و آب غالب هستند. هنگامی که کروم در آب/خاک قرار می گیرد، دچار تغییرات مختلفی مانند اکسیداسیون، احیا، جذب، دفع، انحلال و رسوب می‌شود. حلالیت کروم سه ظرفیتی به pH بستگی دارد، کروم شش ظرفیتی در دامنه وسیعی ازpH بسیار محلول است.کروم به عنوان یک عنصر غیر ضروری برای گیاهان، مکانیسم خاصی برای جذب آن وجود ندارد. جذب کروم سه ظرفیتی یک فرآیند غیرفعال است، در حالی که جذب کروم شش ظرفیتی توسط حامل‌های عناصر ضروری مانند سولفات انجام می‌شود (Oliveira, 2012). این عنصر قادر است اثرات سمی متعددی بر گیاهان از جمله تغییرات در فرآیند جوانه زنی و کاهش رشد ریشه، ساقه، برگ داشته باشد که در نهایت ممکن است بر تولید و عملکرد ماده خشک اثرگذار باشد و همچنین اثرات مضر بر فرآیندهای مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی مانند فتوسنتز، روابط آبی و تغذیه معدنی ایجاد کند. تغییرات متابولیکی ناشی از قرار گرفتن در معرض کروم نیز در گیاهان به دلیل تأثیر مستقیم کروم بر آنزیم ها و سایر متابولیت ها یا توانایی آن در تولید گونه های اکسیژن فعال می باشد که ممکن است منجر به استرس اکسیداتیو شود (Shanker *et al.*, 2005). افزایش تولید فرایندهای اکسیداتیو منجر به معیوب‌سازی DNA و RNA، پراکسیده شدن چربی، پروتئین، کاهش زیست توده، مسدود کردن زنجیره تأمین مواد غذایی و در نهایت کاهش عملکرد گیاه می‌شود (Raptis *et al.*, 2018). ریشه گیاه اولین اندام است که با آلاینده‌های خاک مواجه می‌شود، کروم یکی از مهمترین آلاینده های خاک است که بر رشد و نمو ریشه تأثیر می گذارد. کروم همچنین در تنظیم رشد و تعداد ریشه های ثانویه، توسعه ریشه جانبی، موهای ریشه و تشکیل ریشه های فرعی نقش دارد (Wakeel and Xu, 2020). هو و همکاران (Hou, *et al.*, 2014) در بررسی اثر کروم بر سه گیاه گندم، ذرت و کاهو کاهش رشد ریشه در اثر افزایش غلظت کروم را مشاهده و عنوان کردند که گیاه کاهو نسبت به سایر گیاهان به سمیت کروم حساس‌تر است. در مطالعه‌ای پارک (Park, 2020) تأثیر دو گونه کروم سه ظرفیتی و شش ظرفیتی را برگیاه کاهو بررسی و با افزایش غلظت هر دو گونه کروم در شرایط هیدروپونیک، به طور قابل توجهی کاهش رشد برگ و ریشه همچنین کاهش غلظت پتاسیم، کلسیم، منیزیم و فسفر را مشاهده کرد. گیل و همکاران (Gill *et al.*, 2015) در بررسی سمیت کروم بر چهار رقم کلزا، کاهش رشد هر چهار رقم مورد آزمایش، افزایش تجمع گونه های فعال اکسیژن (ROS) و مالون دی آلدئید (MDA) و افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی در برگ و ریشه را مشاهده کردند. همچنین با ارائه نتایج مطالعه میکروسکوپی الکترونی آسیب‌های فراساختاری در سلول‌های مزوفیل برگ و نوک ریشه در اثر سمیت کروم را تایید کردند. در مطالعه‌ای که دیاس و همکاران (Dias, et al., 2016) با کاربرد مقادیر کروم برگیاه کاهو نشان دادندکه استرس کروم رشد گیاه را کاهش داد و بر غلظت پتاسیم، منیزیم، آهن و روی در ریشه و برگ، کلروفیل a، آنتوسیانین‌ها، مقدار پروتئین، قند و همچنین واکنش‌های فتوسنتزی تأثیر منفی داشت و فرآیندهای فتوشیمیایی فتوسنتز نسبت به چرخه کالوین به سمیت کروم حساس‌تر بودند.

فرایندهای متفاوتی برای حذف کروم شش‌ظرفیتی پیشنهاد شده است. احیاء شیمیایی متداولترین روش مورد استفاده برای سمیت‌زدایی با احیاکننده‌های آلی و معدنی (به‌عنوان پذیرای الکترون) است که برای کاهش کروم شش‌ظرفیتی به کروم سه ظرفیتی به‌کار می‌رود؛ بعد از آن کروم سه ظرفیتی با هیدروکسیل واکنش داده و ترکیبات نامحلول و پایدار هیدروکسید کروم را تشکیل می‌دهد (Li *et al.*, 2017).

اسید هیومیک‌ها پلی‌الکترولیت‌های آلی هستند که بخش مهمی

1- Superfund priority list

از مواد آلی طبیعی در خاک، رسوبات و آب می‌باشند که به دلیل حضور گسترده در همه جا و دارا بودن گروه‌های عملکردی مختلف مانند گروه‌های کربوکسیلیک، فنولیک، هیدروکسیل و برخی از گروه‌های عاملی حاوی نیتروژن، گوگرد، تأثیر قابل‌توجهی بر جذب یون‌های فلزی سمی نشان داده‌اند و توانایی تشکیل کمپلکس آنها از نظر زیست محیطی دارای اهمیت می‌باشد (Shaker and Albishri, 2014). حذف و احیاء کروم شش ظرفیتی توسط مواد هیومیکی در پژوهش‌های پیشین گزارش شده است. دو مکانیسم مستقیم وغیر مستقیم برای توصیف فرایند احیا کروم شش ظرفیتی توسط اسید هیومیک مطرح شده است. در مکانیسم مستقیم احیا، کروم شش ظرفیتی با تماس با گروه‌های دهنده الکترون در فاز مایع احیا گردیده و کروم سه ظرفیتی احیا یافته ممکن‌است متعاقبا روی سطح ماده جاذب، جذب شده یا در محلول باقی بماند. در مکانیسم غیرمستقیم، کروم شش ظرفیتی روی بار مثبت سطح جاذب، جذب شده و به دنبال آن کروم شش ظرفیتی متصل به اسید هیومیک توسط گروه‌های دهنده الکترون به کروم سه ظرفیتی احیا شده و کروم سه ظرفیتی ممکن‌است روی سطح جاذب از طریق کمپلکس شدن باقیمانده، یا به داخل فاز محلول آزاد گردد (Janoš *et al.*, 2009). وو و همکاران (Wu *et al.*, 2017) نشان دادند که اسید هیومیک با منشاء کود گاوی، با داشتن مقدار بیشتر کربن فنلی و کربن اکسیژن–الکیل[1] دارای توانایی بهتری برای احیاء کروم شش ظرفیتی است. کربن فنلی و کربن اکسیژن–الکیل، مانند الیگوساکارید و مونوساکارید موجود در اسید هیومیک‌ها، مواد احیاکننده کروم شش ظرفیتی هستند. به عقیده توفنکسی و همکاران (Tüfenkçi *et al.*, 2006) کاربرد اسید هیومیک با تأثیر مثبت بر رشد گیاه و غلظت عناصر غذایی مانند نیتروژن، اسید هیومیک، پتاسیم، کلسیم، منیزیم، آهن و کاهش عناصر سنگین مانند کروم، کبالت و کادمیوم منجر به بهبود رشد کاهو می‌گردد. مطالعه کابرد اسید هیومیک و تأثیر آن روی رنگدانه های فتوسنتزی گندم تحت تنش کروم نشان داد که کاربرد سطوح مختلف کروم منجر به کاهش کاروتونوئید، کلروفیل کل، کلروفیل a و کلروفیل b گردید و با افزایش سطوح اسید هیومیک، نسبت کلروفیل a/b و مقدار مالون‌دی‌آلدئید (MDA)[2] در گیاه در مقایسه با تیمارهای بدون اسید هیومیک، افزایش یافت که نشان داده نقش اسید هیومیک در تنظیم فعالیت‌های فتوسنتزی بوده که منجر به کاهش اثرات سوء تنش کروم در گیاه شده است (Akcin and Akcin, 2019). ریتیس و همکاران (Raptis *et al.*, 2018) کاهش تجمع کروم در شاخساره و ریشه گیاه کاهو را با کاربرد ماده آلی لئوناردیت مشاهده کردند و علت این امر را کاهش قابلیت دسترسی کروم به کاهو از طریق احیاء کروم شش ظرفیتی به کروم سه ظرفیتی در اثر کاربرد لئوناردیت عنوان کردند. با توجه به مصرف زیاد کاهو به صورت تازه خوری در سبد غذایی جامعه، سلامت این محصول از اهمیت به‌سزایی برخوردار می‌باشد. بنابراین پژوهش حاضر با هدف ارزیابی تأثیر سطوح اسید هیومیک در خاک آلوده به کروم و چگونگی واکنش گیاه به سمیت و جذب کروم، در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. وزن‌های خشک برگ، ساقه، ریشه و غلظت کروم در قسمت خوراکی و ریشه گیاه و همچنین فاکتور انتقال، فاکتور انباشت در شاخساره و ریشه اندازه‌گیری گردید.

مواد و روش‌ها

این تحقیق بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد (مهر ۱۳۹۶) و با سه تکرار انجام شد. خاک از عمق ۳۰ سانتی‌متری جمع آوری و هوا خشک شد و از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شد. خصوصیات شیمیایی و فیزیکی خاک در جدول ۱ ارائه شده است. بافت خاک به روش هیدرومتری (Bouyoucos, 1962)، درصد مواد آلی (Walkley and Black, 1934) و مقدار کربنات کلسیم معادل (Loeppert and Suarez, 1996) تعیین شدند. نیتروژن کل به روش کجلدال(Bremner, 1996)، pH در گل اشباع و قابلیت هدایت الکتریکی در عصاره گل اشباع مطابق روش‌های معمول اندازه گیری شد (Richards, 1954). غلظت عناصر سنگین کل در خاک با استفاده از روش تیزاب سلطانی (Chen and Ma, 2001) و مقادیر قابل استفاده کروم و سایر عناصر در خاک با استفاده از DTPA عصاره‌گیری (Quevauviller *et al.*, 1998) شد. جهت اعمال سه سطح کروم (صفر، ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک)، مقدار مشخصی از نمک $K_2Cr_2O_7$ در آب مقطر حل و محلول‌های کروم در سه سطح آماده‌سازی شدند. نمونه‌های خاک در کیسه‌های پلاستیکی ریخته شده و بر حسب تیمارها، از محلول پایه به صورت محلول‌پاشی به خاک‌ها افزوده و به طور کامل مخلوط گردید. نمونه‌های خاک به مدت ۸ هفته در رطوبت ظرفیت زراعی نگهداری شده تا به تعادل برسند (Wang, *et al.*, 2019). تیمارهای اسید هیومیک نیز به مقدار مشخص و بر پایه درصد، تهیه و به خاک اضافه شده و پس از مخلوط کردن به گلدان‌های پنج کیلویی منتقل گردید. سه عدد نشاء کاهوی سالادی رومی (*Lactuca sativa* L. var. longifolia) رقم 'سیاهو' از قبل آماده سازی شده در خاک کشت شد. گیاهان در فواصل زمانی معین با مقادیر یکسان آبیاری شدند. بعد از گذشت ۱۰۰ روز از تاریخ کشت، هر سه گیاه در هر گلدان، از ۱ سانتی‌متر بالای سطح خاک قطع گردید. نمونه‌های گیاهی جمع‌آوری و با آب مقطر

1- O-alkyl C
2- malondialdehyde

شسته شدند. قسمت‌های برگ، ساقه و ریشه جداسازی و در دمای ۷۰–۶۵ درجه سانتی‌گراد تا رسیدن به وزن ثابت در اون خشک گردید. بعد از آن نمونه‌های خشک شده توزین، آسیاب، الک و برای هضم و آنالیز آماده شدند. نمونه‌های گیاهی ریشه و شاخساره با روش هضم اسید نیتریک/پرکلریک برای کروم کل عصاره‌گیری شد (Banks *et al.*, 2006). غلظت کروم کل در عصاره‌های گیاه و در عصاره‌های خاک با استفاده از دستگاه ICP-OES شده آزمایشگاه مرکزی دانشگاه فردوسی قرائت گردید.

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد مطالعه

Table 1- Physicochemical properties of the soil sample

مقدار Value	ویژگی خاک Soil properties	مقدار Value	ویژگی خاک Soil properties
161.41	پتاسیم قابل استفاده Available K (mg.kg^{-1})	Sandy Loam	بافت خاک Textural class
0.19	کروم کل Total Cr (mg.kg^{-1})	7.71	واکنش خاک pH
2457.84	آهن کل Total Fe (mg.kg^{-1})	1.42	هدایت الکتریکی ECe (dS.m^{-1})
42.12	منگنز کل Total Mn (mg.kg^{-1})	0.48	کربن آلی Organic C (%)
0.01	کروم قابل دسترس DTPA- extractable Cr (mg.kg^{-1})	15.20	کربنات کلسیم $CaCO_3$ (%)
12.74	آهن قابل دسترس DTPA- extractable Fe (mg.kg^{-1})	0.03	نیتروژن کل Total nitrogen (%)
40.26	منگنز قابل دسترس (میلی‌گرم بر کیلوگرم) DTPA- extractable Mn (mg.kg^{-1})	10.60	فسفر قابل دسترس Available P (mg.kg^{-1})

فاکتور انتقال[1] و فاکتور انباشت زیستی BAF[2] از فرمول‌های زیر محاسبه شدند.

$$\text{فاکتور انتقال} = \frac{\text{غلظت کروم در شاخساره (میلی‌گرم بر کیلوگرم)}}{\text{غلظت کروم در ریشه (میلی‌گرم بر کیلوگرم)}}$$

$$\text{فاکتور انباشت زیستی شاخساره} = \frac{\text{غلظت کروم در شاخساره (میلی‌گرم بر کیلوگرم)}}{\text{غلظت کروم در خاک (میلی‌گرم بر کیلوگرم)}}$$

$$\text{فاکتور انباشت زیستی ریشه} = \frac{\text{غلظت کروم در ریشه (میلی‌گرم بر کیلوگرم)}}{\text{غلظت کروم در خاک (میلی‌گرم بر کیلوگرم)}}$$

تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار JMP8 انجام شد. مقایسه میانگین‌های هر تیمار بر اساس آنالیز واریانس (Two-Way ANOVA) و مطابق حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD)[3] انجام شد.

نتایج و بحث

وزن خشک گیاه (برگ، ساقه، ریشه و شاخساره)

نتایج حاصل از تجزیه واریانس زیست توده برگ، ساقه، شاخساره و ریشه کاهو نشان داد که کاربرد سطوح کروم و اسید هیومیک بر وزن خشک اجزاء مختلف گیاه (برگ، ساقه، شاخساره و ریشه) تأثیر معنی‌دار داشت و برهمکنش این دو، در همه موارد به‌غیر از ساقه، معنی‌دار بود (جدول ۲).

با افزایش سطوح کروم در خاک وزن خشک برگ، شاخساره و ریشه به‌طور معنی‌دار کاهش یافته است. در کاهو، مصرف ۲۵ و ۵۰ میلی گرم کروم بر کیلوگرم خاک موجب کاهش میانگین وزن خشک برگ به ترتیب معادل ۸۳٪ و ۱۹۴٪ (شکل ۱)، وزن خشک شاخساره به ترتیب معادل ۱۰۱٪ و ۲۱۹٪ (شکل ۳)، وزن خشک ریشه به ترتیب معادل ۶۵٪ و ۹۲٪ نسبت به شاهد شدند (شکل ۲). به نظر می رسد تأثیر این آلاینده در کاهش زیست‌توده برگ بیشتر از ریشه و در شاخساره بیشتر از برگ و ریشه بوده است.

بیشترین میزان تأثیر نسبت به شاهد، در سطح ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کروم مربوط به شاخساره گیاه بوده است. قرار گرفتن گیاهان مختلف در معرض افزایش غلظت کروم، منجر به اختلال در رشد و نمو کاهو و گندم می‌گردد (Ali *et al.*, 2015; Dias *et al.*, 2016 ; Gill *et al.*, 2015). کروم با فرآیندهای فتوسنتزی تنفس، مکانیسم جذب آب و مواد معدنی تداخل (Dias *et al.*, 2016) دارد (Singh *et al.*, 2013). همچنین سمیت کروم در گیاهان را می‌توان با تأثیر منفی بر بیوسنتز رنگدانه (Ma *et al.*, 2016)، رشد

1- Translocat Factor
2- Bioaccumulation Factor
3- Least Significant Differenceion

ریشه اعم از طول، حجم و تعداد نوک (Zhao *et al*., 2019) و آسیب‌های فراساختاری در سلول‌های مزوفیل برگ و نوک ریشه (Gill *et al*., 2015) مرتبط دانست. تجمع کروم در بافت‌های گیاهی فراتر از سطح سمیت گیاه منجر به ایجاد استرس اکسیداتیو ثانویه و در نتیجه تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن ROS، پراکسیداسیون لیپیدی و تغییر فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی می‌شود (Shahid *et al*., 2017). به‌هم‌ریختگی ساختار کلروپلاست، مهار انتقال الکترون و تأثیر کروم بر آنزیم‌های چرخه کالوین، توضیحی برای کاهش نرخ فتوسنتز می‌باشد (Shanker *et al*., 2005).

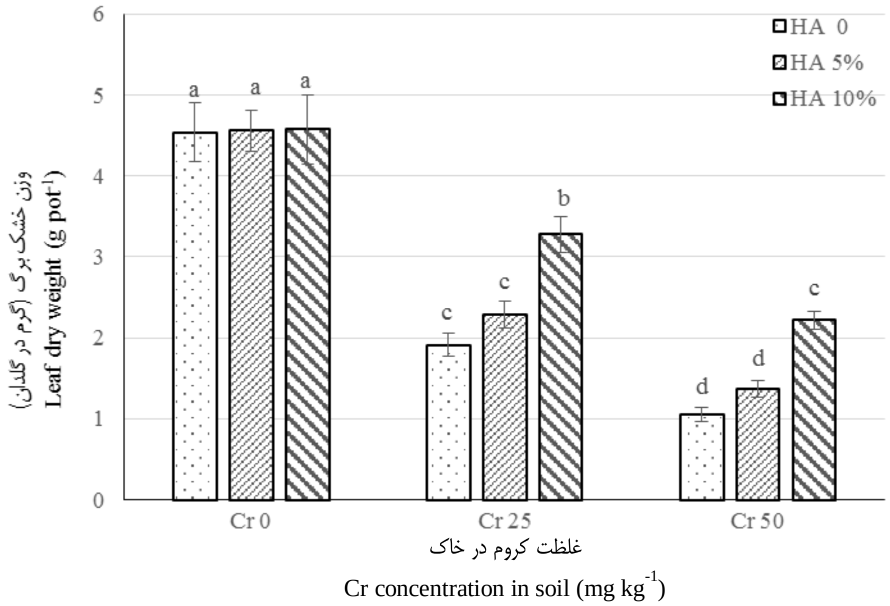
جدول ۲- تجزیه واریانس اثر سطوح کروم و اسید هیومیک، بر وزن خشک برگ، ساقه، ریشه و شاخساره کاهو سالادی رومی رقم 'سیاهو'

Table 2- ANOVA for the effect of Cr and humic acid levels on leaf, stem, shoot and root dry weight in *Lactuca sativa* L. var. longifolia

منابع تغییرات Source of variance	درجه آزادی df	وزن خشک Dry weight برگ Leaf	 ساقه Stem	 شاخساره Shoot	 ریشه Root
کروم Cr	2	21.3 **	2.62 **	38.6 **	0.3234 **
اسید هیومیک Humic acid (HA)	2	1.77 **	0.0417 **	2.23 **	0.0374 **
Cr × HA	4	0.413 **	0.0008 ns	0.441 **	0.0078 *
خطا Error	18	0.057	0.0069	0.048	0.0024
ضریب تغییرات CV(%)		7.22	8.24	5.61	8.83

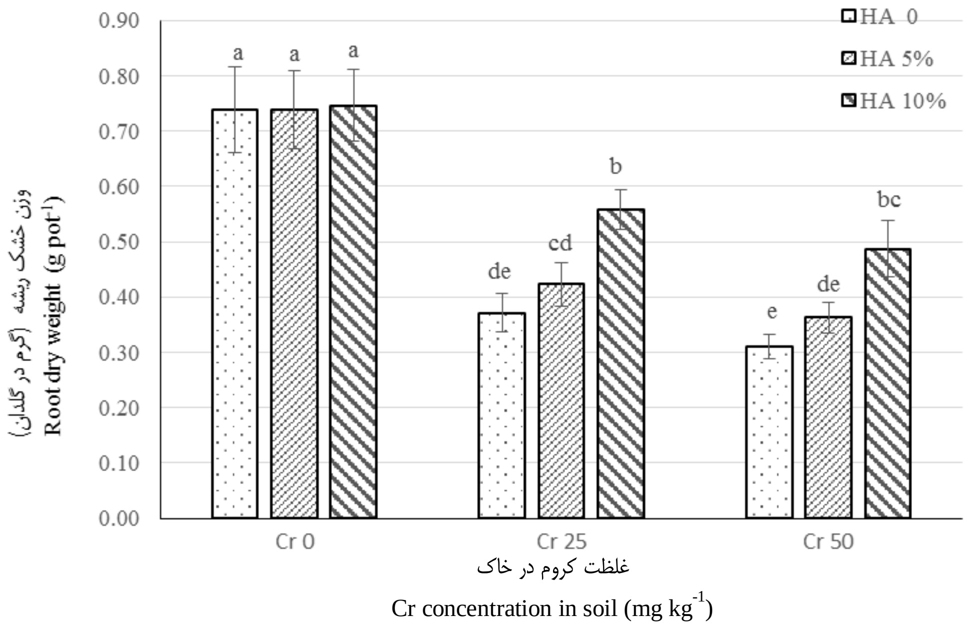
ns ، * و **: به ترتیب عدم معنی¬دار ی و معنی¬دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

ns, * and **: non-significant and significant at $p \leq 0.05$ and $p \leq 0.01$, respectively.



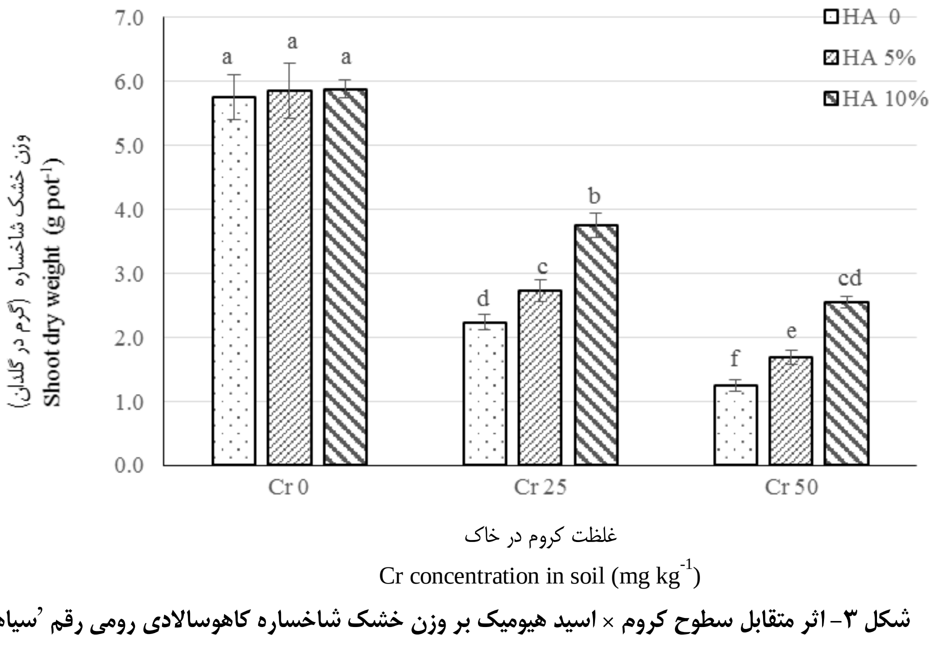
شکل ۱- اثر متقابل سطوح کروم × اسید هیومیک بر وزن خشک برگ کاهو سالادی رومی رقم 'سیاهو'

Figure 1 –The interaction effect of Cr ×humic acid levels on leaf dry weight of *Lactuca sativa* L. var. longifolia (LSD, $p < 0.05$)



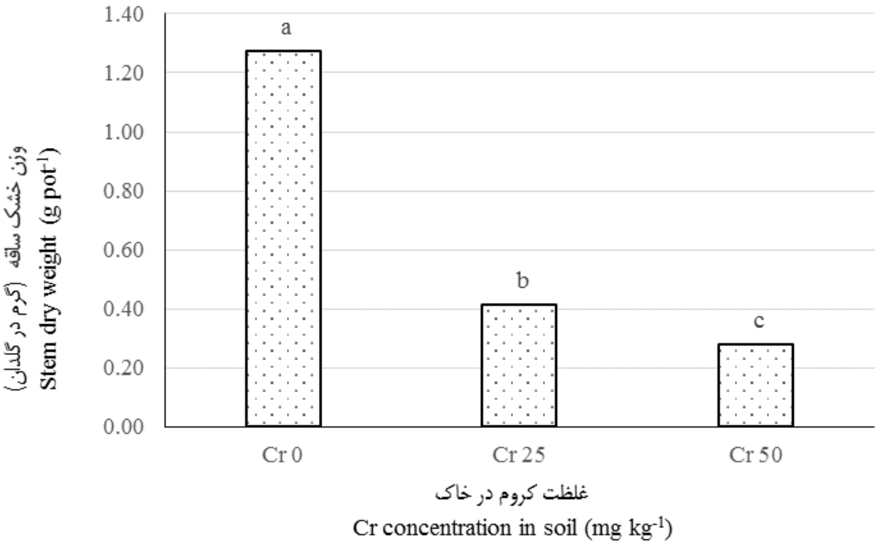
شکل ۲- اثر متقابل سطوح کروم × اسید هیومیک بر وزن خشک ریشه کاهو سالادی رومی رقم 'سیاهو'

Figure 2– The interaction effect of Cr ×humic acid levels on root dry weight of *Lactuca sativa* L. var. longifolia (LSD, $p < 0.05$)



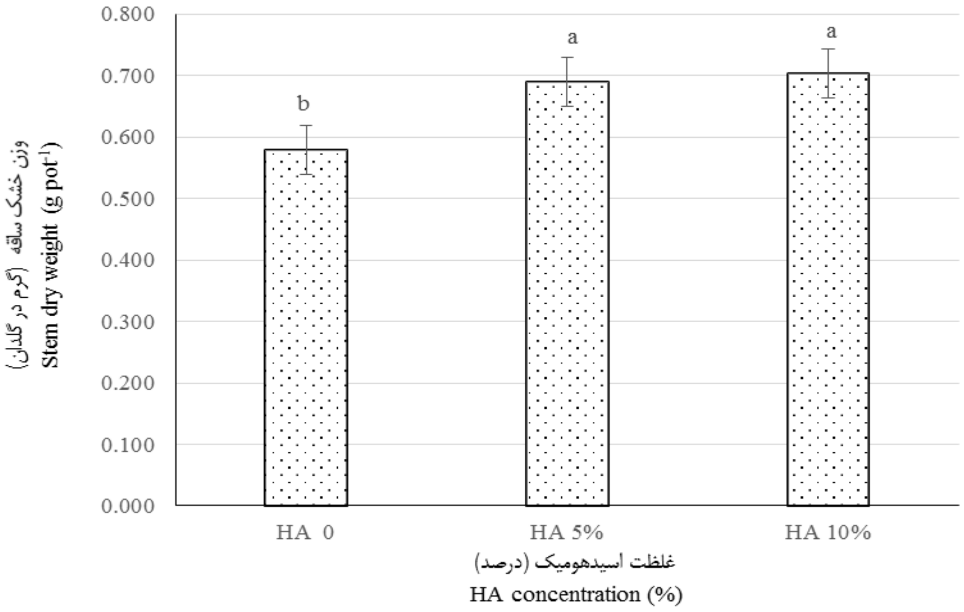
شکل ۳- اثر متقابل سطوح کروم × اسید هیومیک بر وزن خشک شاخساره کاهوسالادی رومی رقم 'سیاهو'

Figure 3 –The interaction effect of Cr ×humic acid levels on shoot dry weight of *Lactuca sativa* L. var. longifolia (LSD, $p < 0.05$)



شکل ٤- اثر سطوح کروم بر وزن خشک ساقه کاهو سالادی رومی رقم 'سیاهو'

Figure 4- The effect of Cr levels on stem dry weight of *Lactuca sativa* L. var. longifolia ($p < 0.05$)



شکل ٥- اثر سطوح اسید هیومیک بر وزن خشک ساقه کاهو سالادی رومی رقم 'سیاهو'

Figure 5– The effect of humic acid levels on stem dry weight of *Lactuca sativa* L. var. longifolia (LSD, $p < 0.05$)

اثر ساده سطوح اسید هیومیک بر وزن خشک بـرگ، شاخساره و ریشه کاهو نشان داد که افزایش سطح ۵ و ۱۰ درصد اسـیدهیومیک، وزن خشک برگ را بـه‌ترتیـب معـادل ۹/۴ ٪ و ۳۴٪ (شـکل ۱)، وزن خشک شاخسـاره را بـه ترتیـب معـادل ۱۱٪ و۳۲٪ (شـکل ۳) و وزن خشک ریشـه را معـادل ۷/۳ ٪ و ۲۹٪ (شـکل ۲) نسـبت بـه شـاهد افزایش دادند. به نظر می‌رسد تأثیر اسیدهیومیک بـر افـزایش زیسـت توده هوایی بیشتر از زیست توده ریشه می‌باشد.

اثر ساده سطوح کروم بر زیست توده ساقه نشان داد که با افزایش سطوح ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم کروم بر کیلوگرم خاک، وزن خشـک سـاقه کاهش معنی‌دار به‌ترتیب معادل ۲۰۷٪ و ۳۵۵٪ نسبت به شاهد داشت (شکل ۴). همچنین با افزایش اسیدهیومیک ۵ درصد و ۱۰ درصد وزن خشک ساقه به ترتیب معادل ۱۹٪ و ۲۱٪ افزایش معنی‌دار نشـان داد (شکل ۵)؛ که سطوح ۵ و ۱۰ درصد اسیدهیومیک باهم اختلاف معنی دار نداشتند.

نتایج ارائه شده اثر متقابل کروم و اسیدهیومیک نشان دادند که اسید هیومیک تأثیر سوء کروم بر رشد کاهو را کاهش داد، به‌طوری که سطح ۵۰ میلی‌گرم کروم برکیلوگرم + سطح صفر اسید هیومیک منجر به کاهش وزن خشک برگ، شاخساره و ریشه به‌ترتیب معادل ۳۲۷٪، ۳۶۰٪ و ۱۳۸٪ نسبت به تیمار شاهد (Cr_0 HA_0) شده و سطح ۵۰ میلی گرم کروم بر کیلوگرم+ ۵ درصد اسید هیومیک، این کاهش را به‌ترتیب معادل ۲۳۵٪، ۲۴۹٪ و ۱۰۴٪ درصد نسبت به تیمار شاهد (Cr_0 HA_5) و سطح ۵۰ میلی گرم کروم برکیلوگرم + سطح ۱۰ درصد اسید هیومیک این کاهش را به ۱۰۶٪، ۱۳۱٪ و ۵۳٪ نسبت به شاهد (Cr_0 HA_{10}) رساند. به نظر می‌رسد کاهش اثر بازدارندگی کروم در همه اجزاء گیاه، در اثر کاربرد اسید هیومیک در سطوح بیشتر کروم بیش از سطوح کمتر کروم باشد به‌طوری که با کاربرد ۲۵ میلی‌گرم کروم بر کیلوگرم خاک + اسید هیومیک ۵ درصد و ۱۰ درصد، وزن خشک برگ بترتیب ۱۹/۵٪ و ۷۱/۲٪ و در سطح ۵۰ میلی‌گرم کروم بر کیلوگرم به‌ترتیب ۲۹٪ و ۱۱۰٪ نسبت به شاهد هر یک (Cr25 HA0 و Cr50 HA0) افزایش یافت (شکل ۱). افزایش اسید هیومیک ۵ درصد و ۱۰ درصد در سطح ۲۵ میلی‌گرم کروم بر کیلوگرم خاک وزن خشک شاخساره را به‌ترتیب ۲۲٪ و ۶۷٪ نسبت به شاهد (Cr25 HA0) و در سطح ۵۰ میلی‌گرم کروم بر کیلوگرم به ترتیب ۳۵٪ و ۱۰۴٪ نسبت به شاهد (Cr50 HA0) افزایش داد (شکل ۳). همچنین در سطح ۲۵ میلی‌گرم کروم بر کیلوگرم خاک + اسید هیومیک ۵ درصد و ۱۰ درصد، وزن خشک ریشه به‌ترتیب ۱۴٪ و ۵۰٪ نسبت به شاهد (Cr25 HA0)، و در سطح ۵۰ میلی‌گرم کروم بر کیلوگرم به ترتیب ۱۷٪ و ۵۷٪ نسبت به شاهد (Cr50HA0) افزایش یافت (شکل ۲). بیشترین میزان وزن خشک اجزاء مختلف گیاه در هر سطح کروم، با کاربرد اسید هیومیک ۱۰ درصد و کمترین مقدار، بدون کاربرد اسید هیومیک در هر تیمار کروم مشاهده شد. همچنین با مقایسه درصد افزایش زیست توده در اثر کاربرد اسیدهیومیک در اجزاء مختلف کاهو، می‌توان نتیجه گرفت که در شرایط تنش کروم، اثر بخشی اسید هیومیک بر افزایش زیست توده هوایی بیشتر از ریشه می‌باشد. کاهش جذب و به‌کارگیری مواد غذایی یکی از اثرات مهم شناخته شده فلزات سمی بر روی گیاهان می‌باشد (Shanker et al., 2005). در پژوهشی دیاس و همکاران (Dias et al., 2016) در اثر کاربرد کروم، کاهش غلظت برخی از عناصر غذایی پر مصرف و کم مصرف را در کاهو گزارش و عنوان کردند که کروم علاوه بر اختلال در جذب آهن، منیزیم، روی و پتاسیم، بر رنگدانه‌ها، مقدار پروتئین، قند و همچنین واکنش‌های فتوسنتزی تأثیر منفی دارد. فرآیندهای فتوشیمیایی فتوسنتز نسبت به چرخه کالوین به سمیت کروم حساس‌تر بوده و فتوسنتز هدف اصلی بازدارندگی کروم شش ظرفیتی است. تنش کروم یکی از عوامل مهمی است که بر فتوسنتز از طریق تأثیر بر تثبیت CO_2، انتقال الکترون، فسفری شدن نوری[1] و فعالیت آنزیمی مؤثر می‌باشد. اثر کلی یون‌های کروم بر فتوسنتز و تحریک انتقال انرژی نیز می‌تواند به دلیل ناهنجاری‌های ناشی از کروم شش ظرفیتی در فراساختار کلروپلاست باشد (Shanker et al. 2005). اکسین و اکسین (Akcin and Akcin, 2019) نشان دادند که کاربرد سطوح مختلف کروم منجر به کاهش کاروتونوئید،کلروفیل کل، کلروفیل a و b در گیاه گندم گردید و با افزایش اسید هیومیک، نسبت کلروفیل a/b و مقدار مالون‌دی‌آلدید (MDA)[2] در گیاه در مقایسه با تیمارهای بدون اسید هیومیک، افزایش یافت که نشان داد کاربرد اسید هیومیک با تنظیم فعالیت‌های فتوسنتزی منجر به کاهش اثرات سوء تنش کروم در گیاه شد. همچنین توفکنسی و همکاران (Tüfenkçi et al., 2006) با بررسی تأثیر سطوح مختلف اسید هیومیک بر مقادیر عناصر سنگین و رشد گیاه کاهو در خاک‌های آلوده به لجن فاضلاب عنوان کردند که کاربرد اسید هیومیک با کاهش عناصر سنگین مانند کروم، کبالت و کادمیوم منجر به بهبود رشد گیاه کاهو گردید.

غلظت کروم در شاخساره و ریشه

تجزیه واریانس اثر سطوح کروم و اسید هیومیک، بر غلظت کروم در شاخساره و ریشه، فاکتور انتقال و فاکتور انباشت شاخساره و ریشه در کاهو نشان داد که تأثیر کروم، بر پارامترهای ذکر شده معنی‌دار بود. همچنین اثر کاربرد سطوح مختلف اسید هیومیک بر همه این موارد معنی‌دار بود. اثر برهمکنش کروم و اسیدهیومیک نیز، در همه موارد غیر از فاکتور انباشت زیستی شاخساره معنی‌دار بود (جدول ۳).

میانگین غلظت کروم در شاخساره و ریشه کاهو نشان داد که با افزایش سطوح کروم در خاک، غلظت کروم در ریشه و شاخساره گیاه به طور قابل توجهی بیش از شاهد بود (جدول ۴). در سطح صفر اسید هیومیک + ۵۰ میلی گرم کروم بر کیلوگرم، غلظت کروم در شاخساره از ۰/۰۱۶ به ۳۷/۷ و در ریشه از ۰/۰۵۱ به ۳۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک گیاه رسیده است. در پژوهش های پیشین، افزایش غلظت کروم در اثر آلایندگی کروم در کاهو (Dias et al., 2016; Park 2020; Raptis et al., 2018 ;)، گوجه فرنگی (Christou et al., 2021a; Christou et al., 2021b) و اسفناج (Jahanbakhshi et al., 2014) گزارش شده است.

با افزایش سطوح اسیدهیومیک، غلظت کروم شاخساره به طور معنی‌دار کاهش یافت. همچنین افزایش سطوح اسیدهیومیک موجب افزایش معنی‌دار غلظت کروم ریشه شد. افزایش سطوح ۵ و ۱۰ درصد اسیدهیومیک، غلظت کروم را در شاخساره به ترتیب ۱۸٪ و ۸۳٪

1- photophosphorylation
2- malondialdehyde

کـاهش، و در ریشــه ۱۸٪ و ۲۹٪ نسـبت بـه شـاهد افـزایش داد. (جدول ۴). داده‌های مربوط به غلظت کروم در بافت‌های کاهو نشـان دادند که قسمت اعظم عنصر جذب شده در ریشه‌ها انباشته شده است و تنها بخش کوچک‌تری به اندام هوایی منتقل شده است (جـدول ۴). در پژوهش‌های پیشین تجمع بیشتر کروم در ریشه نسبت به اندام‌های هوایی در کاهو (Raptis *et al.*, 2018) و اسفناج (Alashti *et al.*, 2013) گزارش‌شده است. احتمالاً کروم در مکان‌های خارج سلولی بـا بار منفی (به‌عنوان مثال، –COO) دیواره سلولی ریشه جذب می‌شود بنابراین، بی‌تحرکی کروم در واکوئل‌های سـلول‌هـای ریشـه رخ داده است (Sinha *et al.*, 2018). انتقال ضعیف کروم به اندام‌های هوایی می‌تواند به دلیل جداسازی[1] بیشتر کروم در واکوئل‌هـای سـلول‌هـای ریشه باشد تا سمیت عنصر را در گیاه کم کند و احتمـالاً یـک پاسـخ طبیعـی بـه سـمیت عناصـر سـنگین در گیـاه مـی‌باشـد (Sauerbeck, 1991 ; Riaz *et al.*, 2019). همان‌گونه کـه انتظـار می‌رفت غلظت کروم در شاخساره گیاهانی کـه تیمـار ۵ و ۱۰ درصد اسید هیومیک دریافت کردند نسبت به شاهد کاهش معنـی‌دار نشـان دادند؛ به‌گونه‌ای که بـا افـزودن سـطوح ۵ درصـد و ۱۰ درصـد اسـید هیومیک و کاربرد سطح ۲۵ میلی‌گرم کروم بر کیلوگرم، غلظت کـروم در شاخساره از ۱۷/۸ در شـاهد (Cr25HA0) بـه ترتیـب بـه ۱۴/۷ و ۱۱/۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم می‌رسد که معادل ۲۱٪ و ۵۸٪ کاهش می باشد و با کاربرد سطح ۵۰ میلی‌گـرم کـروم برکیلـوگرم، غلظـت ایـن عنصر در شاخساره از ۴۷/۷ برای شاهد (Cr50HA0) به ترتیب ۴۰/۸ و ۲۴/۶ میلی‌گرم برکیلوگرم می‌رسد که معـادل ۱۷٪ و ۹۴٪ کـاهش غلظت می‌باشد. (جدول ۴). در ریشه کـاربرد ایـن اصـلاح کننـده اثـر مثبت و معنی‌دار بر غلظت کروم ریشه داشت به‌گونه‌ای که کاربرد ۵ و ۱۰ درصد اسید هیومیک در سطح ۲۵ میلـی‌گـرم کـروم برکیلـوگرم، غلظت کروم را از ۱۱۴ برای شاهد (Cr25HA0) به ترتیب بـه ۱۴۳ و ۱۵۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم افزایش داد که معادل ۲۶٪ و ۳۶٪ افزایش می‌باشد، هرچند بین سطوح ۵ درصد و ۱۰ درصد اسیدهیومیک تفاوت معنی‌دار وجود نداشت؛ و در سطح ۵۰ میلی‌گـرم کـروم بـر کیلـوگرم خاک، غلظت کروم در ریشـه از ۲۹۱ بـرای شـاهد (Cr50HA0) بـه ترتیب به ۳۳۲ و ۳۶۸ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن خشک مـی‌رسـد کـه معادل ۱۴٪ و ۲۶٪ افزایش می‌باشد.

بیشینه غلظـت کـروم در شاخسـاره در تیمـار ۵۰ کـروم و بـدون مصرف اسید هیومیک (۴۷/۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و کمتـرین مقـدار کروم در هر تیمار کروم، با مصرف ۱۰ درصد اسید هیومیک مشـاهده شد. در ریشه بیشترین غلظت کروم (۳۶۸ میلی‌گـرم بـر کیلـوگرم) در تیمـار ۵۰ میلـی‌گـرم برکیلـوگرم کـروم و بـا کـاربرد ۱۰ درصـد اسیدهیومیک مشاهده شد.

در پژوهش‌های پیشین کاهش اثرات سمیت کروم با مصرف اسید هیومیـک و کـروم در گیاهـان مختلـف گـزارش شـده اسـت (Kalčíková *et al.*, 2016; Akcin and Akcin, 2019). منطقی‌ترین توضیح برای قابلیت دسترسی کم کروم در حضـور اسـید هیومیک این است که اکثر کروم سه‌ظرفیتی ایجاد شده از احیـاء کروم شش ظرفیتی توسط اسید هیومیک کمپلکس شده و برای جذب گیـاه در دسترس نیست. علاوه بر این، جذب کروم در ریشه گیاه بـه گونـه کروم بستگی دارد؛ کروم سه‌ظرفیتی به‌طور غیرفعال با انتشار ساده در مکـان‌هـای تبـادل کـاتیونی دیـواره‌هـای سـلولی جـذب مـی‌شـود (Singh *et al.*, 2013) درحالی‌که کروم شش ظرفیتی به‌طور فعال (با هدایت متابولیکی) توسـط نـاقلان سـولفات حمـل مـی‌شـود و درون ریشه‌ها، کروم شش ظرفیتی بلافاصله به کـروم سـه‌ظرفیتـی تبـدیل می‌شود (Shanker *et al.*, 2005). در پژوهش گلخانه‌ای که رپتیس و همکاران (Raptis *et al.*, 2018) روی خاک آهکـی و گیـاه کـاهو تحت تنش کروم و در حضور مقادیر متفـاوت لئونـاردیـت[2]– کـه گونـه اکسید یافته لیگنیت بوده و دارای مقادیر بالای اسید هیومیـک مـی-باشد– به‌عنـوان مـاده آلـی، انجـام دادنـد؛ کمتـرین مقـدار کـروم در شاخساره را بعد از افزودن بیشترین مقدار لئوناردیت مشاهده و عنـوان کردند که کاربرد ماده آلی تجمع کروم در شاخساره کاهو را ۹۲ درصـد کاهش داد که نشان مـی‌دهـد افـزودن مـواد آلـی ماننـد لئونـاردیـت، به‌عنوان دهنده الکترون در واکنش احیاء کروم شش ظرفیتی به کروم سه ظرفیتی عمل کرده و ازاین طریق موجب کاهش قابلیت دسترسی کروم به کاهو گردید.

در پژوهشی که توفنکسی و همکاران (Tüfenkçi et al., 2006) با به کار بردن غلظت‌های متفاوت اسید هیومیک و لجـن فاضـلاب– که حاوی مقادیر بالای عناصر سنگین می‌باشد – در گیاه کاهو بهبـود رشد و جذب عناصر غذایی پرمصرف و کـم مصـرف ماننـد نیتـروژن، فسفر و پتاسیم غلظت آهن، کلسیم و منیزیم در برگ کاهو و افـزایش فعالیت‌های بیوشیمیایی خاک مانند تـنفس، نیتریفیکاسـیون و معـدنی شدن نیتروژن را مشاهده کردنـد. اسـید هیومیـک احتمـالاً بـر تعـداد باکتری‌های هتروتروف و اتوتروف‌های نیتریفایر[3] در خاک تأثیر قابـل ملاحظه‌ای دارد و مکانیسمی که از طریق آن اسیدهای هیومیـک بـر میکروب‌های خاک و گیاه اثرگذار هست، ممکـن اسـت بـه‌طورعمـده شـامل افـزایش نفوذپـذیری غشـای سـلولی بـه مـواد مغـذی باشـد (Valdrighi *et al.*, 1996). وو و همکاران (Wu *et al.*, 2017) بـا بررسی اسید هیومیک‌های با منشـأ متفـاوت نشـان دادنـد کـه اسـید هیومیک با مقادیر بیشتر کربن فنلی و کـربن اکسـیژن–الکیـل دارای توانایی بهتر برای احیاء کروم شش ظرفیتی است. کربن فنلی و کربن اکسیژن–الکیل، مانند الیگوسـاکارید و مونوسـاکارید موجـود در اسـید هیومیک‌ها مواد احیاکننده کروم شش ظرفیتی هستند.

1- sequesterization

2- leonardite

3- nitrifier

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر سطوح کروم و اسید هیومیکبر غلظت کروم در شاخساره و ریشه، فاکتور انتقال و فاکتور انباشت شاخساره و ریشه در کاهو سالادی رومی رقم 'سیاهو'

Table 3- ANOVA for the effect of Cr and humic acid levels on Cr concentration in shoot and root, translocation factor and shoot and root bioaccumulation factor in *Lactuca sativa* L. var. longifolia

منابع تغییرات Source of variance	درجه آزادی df	میانگین مربعات Means squares محتوی کروم شاخساره Cr co. in Shoot	محتوی کروم ریشه Cr co. in Root	فاکتور انتقال Translocation factor	فاکتور انباشت شاخساره Shoot Bioaccumulation factor	فاکتور انباشت ریشه Root Bioaccumulation factor
کروم Cr	2	3250 **	247803 **	0.0203 **	13.0 **	819 **
اسید هیومیک Humic acid (HA)	2	228 **	3502 **	0.0080 **	0.415 **	130 **
Cr × HA	4	113 **	1134 *	0.0022 **	0.163 ns	25.4 **
خطا Error	18	10.4	273	0.0001	0.058	2.36
ضریب تغییرات CV (%)		12.7	8.75	8.61	11.3	8.60

ns، * و ** به ترتیب عدم معنی‌داری و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.

ns, * and **:non-significant and significant at $p\leq0.05$ and $p\leq0.01$, respectively

جدول ٤- تأثیر سطوح اسید هیومیک بر مقدار کروم در ریشه، شاخساره و فاکتور انتقال، فاکتور انباشت زیستی شاخساره و ریشه کاهو سالادی رومی رقم 'سیاهو' تحت آلودگی کروم

Table 4– The effect of humic acid levels on shoot and root Cr content,translocation factor, shoot and root bioaccumulation factor of *Lactuca sativa* L. var. longifoliaunder Cr contamination

Cr (mg kg^{-1})	0			25			50		
اسید هیومیک Humic acid (%)	0	5	10	0	5	10	0	5	10
غلظت کروم در شاخساره Shoot Cr concentration (mg.kg^{-1})	0.0016 e	0.0016 e	0.0017 e	17.8 d	14.7 de	11.3 e	47.7 a	40.8 b	24.6 c
غلظت کروم در ریشه Root Cr concentration (mg.kg^{-1})	0.049 f	0.051 f	0.052 f	113 e	143 d	154 d	291 c	332 b	367 a
فاکتور انتقال Translocation factor	0.032 e	0.032 e	0.032 e	0.156 a	0.103 c	0.073 d	0.164 a	0.122 b	0.067 d
فاکتور انباشت ریشه Root bioaccumulation factor	3.85 f	3.90 f	4.83 f	14.4 e	18.8 cd	24.3 b	16.9 de	20.4 c	28.5 a

در هر ردیف، مقادیری که دارای یک حرف مشترک هستند، طبق آزمون LSD تفاوت معنی‌داری ندارند ($P \leq 0.05$).

In each row, values having a common letter are not significantly different ($P \leq 0.05$) according to LSD test.

به‌طور خلاصه، افزایش تثبیت[1] کروم شش ظرفیتی خاک ناشی از افزودن مواد آلی را می‌توان به سه مکانیسم نسبت داد: ۱) احیاء غیر زیستی کروم شش ظرفیتی به کروم سه‌ظرفیتی با ارائه منابع دهنده الکترون ۲) احیاء زیستی میکروارگانیسم‌ها که توسط بستر کربن تحریک شده‌اند و ۳) کاهش مقدار پتانسیل رداکس خاک باعث احیاء کروم شش ظرفیتی می‌شود. برای کروم شش ظرفیتی می‌تواند به‌طور مستقیم توسط مواد آلی احیاء شود که گروه‌های عاملی موجود در این مواد که غنی از الکترون هستند (به‌عنوان‌مثال، گروه‌های فنولی،

1- immobilization

هیدروکسیل، کربوکسیل و آلدئیدی) نقش مهمی در احیا کروم شش ظرفیتی دارند که علاوه بر داشتن نقش اهداکننده الکترون برای احیاء کروم شش ظرفیتی، می‌توانند در کمپلکس کردن کروم نیز شرکت کنند (Yang *et al*., 2021). چهار مرحله برای مکانیسم ماندگاری[1] کروم شش ظرفیتی توسط اسید هیومیک عنوان شده است: ۱) جذب الکتروستاتیک کروم شش ظرفیتی روی سطح اسید هیومیک ۲) کمپلکس شدن کروم شش ظرفیتی توسط کربوکسیل و استر ۳) احیاء کروم شش ظرفیتی کمپلکس شده به کروم سه‌ظرفیتی توسط فنل و پلی‌ساکارید ۴) کروم سه ظرفیتی احیاشده توسط گروه‌های کربوکسیل کمپلس می‌شود (Zhang *et al*., 2017). این گروه‌های عاملی مؤثر در ماندگاری کروم شش ظرفیتی در ناحیه آروماتیک واقع شده‌اند. ناحیه آروماتیک اسید هیومیک با گروه‌های عملکردی قطبی مانند گروه‌های فنل و کربوکسیل مکان‌های عمده هستند که در احیاء کروم شش ظرفیتی شرکت می کنند (Chen *et al*., 2011).

کروم شش ظرفیتی با مواد هیومیکی در محدوده وسیعی از مقادیر pH موجود در محیط واکنش داده و به کروم سه‌ظرفیتی احیا می‌شود. احیا کروم شش ظرفیتی سمیت کروم را کاهش می‌دهد و کروم سه‌ظرفیتی ایجاد شده توسط این فرایند، به‌شدت توسط پیوند درون کره‌ای[2] با اسیدهای هیومیک حفظ می‌شود، که به‌طور قابل‌توجهی فرصت انتشار کروم سه‌ظرفیتی یا اکسیداسیون مجدد به گونه‌های متحرک کروم شش ظرفیتی را کاهش می‌دهد (Aldmour *et al*., 2019). وجود گروه‌های عاملی آروماتیک و جزء دارای اکسیژن موجب افزایش سرعت واکنش احیاء این عنصر می‌شود (Huang *et al*., 2012). گروه‌های عملکردی برای اجزاء مختلف هوموس، دارای ترتیب ترجیحی برای واکنش با کروم شش ظرفیتی به ترتیب کربوکسیل>فنل>هیدروکسیل>کربوکسیل کلاته>متیل>متیلن می‌باشند. بعلاوه، گروه‌های کربوکسیل به احتمال زیاد، به‌عنوان یک لیگاند برای کمپلکس کردن کروم عمل می کند (Zhang *et al*., 2019).

اسید هیومیک با کمپلکس کردن کروم سه ظرفیتی و کاهش قابلیت دسترسی آن برای گیاه، موجب کاهش غلظت کروم در گیاه می‌شود. علاوه بر این، جذب کروم در ریشه گیاه به گونه کروم بستگی دارد: کروم سه‌ظرفیتی به صورت غیرفعال با انتشار ساده در مکان‌های تبادل کاتیونی دیواره‌های سلولی جذب می‌شود (Singh *et al*., 2013) حال‌آنکه کروم شش ظرفیتی به‌طور فعال (با هدایت متابولیکی) توسط ناقلان سولفات حمل می‌شود در داخل ریشه‌ها، کروم شش ظرفیتی، بلافاصله به کروم سه‌ظرفیتی تبدیل می شود (Shanker *et al*., 2005). همچنین در مطالعات پیشین ذکرشده است که پس از جذب کروم توسط ریشه‌ها از محلول غذایی به شکل گونه کروم سه یا کروم شش ظرفیتی، به‌خوبی به‌جای دیگر منتقل نمی‌شود و تا حد زیادی در ریشه گیاهان باقی می‌ماند (Kalčíková *et al*., 2016).

فاکتور انتقال (TF)

برای درک بهتر توزیع کروم، فاکتور انتقال (TF) به‌عنوان یک پارامتر معتبر برای ارزیابی تأثیر اسید هیومیک بر توزیع کروم در گیاه انتخاب شد. بیشترین فاکتور انتقال کروم شاخساره در این آزمایش ۰/۱۶۴ بود (جدول ۴) که نشان می‌دهد تنها بخش بسیار کمی از کروم از ریشه به اندام هوایی منتقل شده است. این مطالعه نشان داد که اندام‌های مختلف کاهو توانایی‌های جذبی متفاوتی از کروم را نشان می‌دهند و ریشه‌های گیاه نسبت به برگ، توانایی بیشتری برای جذب کروم دارند. تجمع بیشتر کروم در ریشه‌ها نسبت به اندام هوایی در این پژوهش با یافته‌های قبلی مطابقت دارد که غلظت بیشتر کروم در ریشه‌ها را به ذخیره کروم در واکوئل‌های ریشه نسبت دادند (Shanker *et al*., 2005 ; Riaz *et al*,. 2019).

افزایش سطوح کروم موجب افزایش معنی‌دار فاکتور انتقال شد؛ به طوری که در تیمارهای ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم کروم برکیلوگرم خاک، فاکتور انتقال از ۰/۰۳۲ برای شاهد، به ترتیب به ۰/۱۱۱ و ۰/۱۱۸ افزایش یافت، هرچند این تفاوت بین سطوح ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم کروم بر کیلوگرم از نظر آماری معنی‌دار نبود. انتقال کروم از ریشه به اندام هوایی، در تیمار ۲۵ و۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کروم حداکثر بود و حداقل این فاکتور در تیمار صفر کروم مشاهده شد. این بدان معنی است که انتقال مؤثر از ریشه به اندام هوایی در غلظت‌های بیشتر کروم صورت گرفته است. به‌طور کلی فرض بر این است که انتقال کروم تنها زمانی رخ می‌دهد که غلظت آن بالاتر از سطح سمیت باشد (Ertani *et al*., 2017) .

افزایش سطوح اسیدهیومیک اثر کاهشی معنی‌دار بر فاکتور انتقال کروم داشت (جدول ۴)، به گونه‌ای که فاکتور انتقال کروم از ۰/۱۱۷ برای تیمار صفر اسیدهیومیک، با افزودن ۵ و ۱۰ درصد این اصلاح کننده به ۰/۰۸۶ و ۰/۰۵۸ رسید که معادل ۳۷ ٪ و ۱۰۳٪ کاهش بود. کاربرد همزمان اسید هیومیک و کروم، فاکتور انتقال را در مقایسه با گیاهان تیمار شده با کروم به‌تنهایی، کاهش داد. در خاک حاوی کروم ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم، کاربرد اسید هیومیک به مقدار ۵ درصد و ۱۰ درصد، فاکتور انتقال از ۰/۱۵۶ برای شاهد (Cr25HA0) به‌ترتیب به ۰/۱۰۳ و ۰/۰۷۳ رسید که معادل ۵۲٪ و ۱۱۳٪ کاهش می‌باشد. برای تیمار ۵۰ میلی‌گرم کروم برکیلوگرم نیز افزایش این سطوح اسیدهیومیک فاکتور انتقال را به‌ترتیب از ۰/۱۶۴ برای شاهد (Cr50HA0) به ۰/۱۲۲ و ۰/۰۶۷ رساند که ۳۴٪ و ۱۴۳٪ نسبت به شاهد کاهش داشت. این یافته ممکن است مربوط به افزایش جذب و

1- retention
2- inner-sphere

تجمع کروم در ریشه و رسوب بر روی سطح ریشه باشد که در نتیجه از انتقال فلز از ریشه به اندام هوایی جلوگیری می‌کند. در مطالعات پیشین ذکر شده است که پس از جذب کروم توسط ریشه‌ها از محلول غذایی- به شکل گونه کروم سه یا کروم شش ظرفیتی- به‌خوبی به جای دیگر منتقل نمی‌شود و تا حد زیادی در ریشه گیاهان باقی می ماند (Kalčíková *et al.*, 2016). ممکن است بخش‌بندی (کده بندی)[1] و جابجایی در سیستم آوندی، دلیل اصلی تفاوت توزیع این عنصر در بخش‌های مختلف گیاه باشد (Kim *et al.*, 2003).

مقادیر زیاد TF نشان می‌دهد که فلزات سنگین بیشتری از ریشه به اندام هوایی منتقل‌شده‌اند، درحالی‌که مقادیر کم TF گویای این مطلب است که فلزات سنگین بیشتری پس از جذب گیاه در ریشه باقی مانده‌اند. کاهش TF به این معنی نیست که جرم فلز سنگین جذب‌شده توسط گیاه کاهش یافته است. این فاکتور به‌سادگی نسبت غلظت فلزات سنگین در اندام هوایی و ریشه را نشان می‌دهد (Park *et al.*, 2013). به نظر می‌رسد کاربرد این اصلاح‌کننده آلی علاوه بر تأثیر بر غلظت کروم، بر توزیع کروم در قسمت‌های مختلف نیز تأثیر داشته و موجب کاهش انتقال به قسمت‌های خوراکی گیاه شده است.

فاکتور انباشت زیستی شاخساره و ریشه

توانایی گیاهان در جذب فلزات سنگین به دلیل ظرفیت‌های مختلف آن‌ها در اتصال با ذرات خاک، همچنین به دلیل برهمکنش ریشه گیاه و فلز که ممکن است بسته به نوع فلزات متغیر باشد، متفاوت هستند. فاکتور انباشت زیستی (BAF)، شاخصی از توانایی جذب فلز خاص از خاک به ریشه و سپس انتقال به قسمت‌های هوایی محصولات گیاه هست و برای تخمین میزان تجمع فلزات سنگین توسط گیاهان تحت تیمارهای مختلف محاسبه شد.

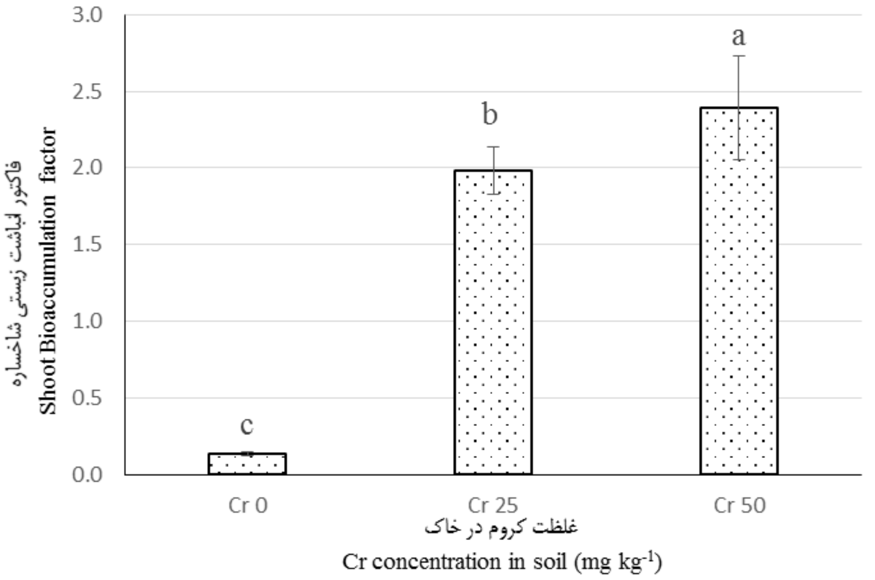
افزایش سطوح کروم در خاک، موجب افزایش معنی‌دار انباشت زیستی شاخساره شد (شکل ۶) به‌طوری که با کاربرد ۲۵ و ۵۰ میلی گرم کروم بر کیلوگرم، این فاکتور از ۰/۱۳۵ (در تیمار صفر کروم) به ترتیب به ۱/۹۸ و ۲/۳۹ رسید. آلفارو و همکاران (Alfaro *et al.*, 2022) در مقایسه گیاهان مختلف تحت تنش عناصر سنگین در خاک، بیشترین فاکتور انباشت را برای سبزی‌های برگی مانند پیازچه و کاهو، گزارش و عنوان کردند که تجمع و توزیع کروم در گیاه نه‌تنها به ویژگی‌های خاک و غلظت فلزات، بلکه به گونه‌های گیاهی نیز بستگی دارد. به‌عنوان مثال، تولید ترشحات ریشه، به‌طور عمده اسیدسیتریک و اگزالیک، می‌تواند با ایجاد کمپلکس با فلزات، پایداری گونه‌های نامحلول کروم را در خاک افزایش و در نتیجه جذب و تجمع کروم در گیاه را افزایش می‌دهد.

افزایش اسیدهیومیک به تنهایی موجب کاهش فاکتور انباشت شاخساره شده‌است (شکل ۷). با افزایش ۵ درصد و ۱۰ درصد اسیدهیومیک به خاک، این فاکتور را درتیمار شاهد از ۱/۷۱ به ترتیب به ۱/۵۲ و ۱/۲۸ رساند هرچند بین سطوح صفر و ۵ درصد اسیدهیومیک از نظر آماری تفاوت معنی‌دار وجود نداشت. برهمکنش کروم و اسیدهیومیک بر فاکتور انباشت شاخساره معنی‌دار نبود.

جدول تجزیه واریانس نشان داد کاربرد سطوح مختلف کروم موجب افزایش معنی‌دار در فاکتور انباشت ریشه شده است به‌طوری که کاربرد ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم کروم، این فاکتور را از ۴/۱۹ برای شاهد به‌ترتیب به ۱۹/۲ و ۲۱/۹ افزایش داد (جدول ۴). کاربرد سطوح ۵ درصد و ۱۰ درصد اسیدهیومیک موجب شد فاکتور انباشت ریشه از ۱۱/۷ برای شاهد به‌ترتیب به ۱۴/۴ و ۱۹/۲ افزایش یابد. کاربرد همزمان کروم و اسیدهیومیک نشان داد که با افزایش ۵ و ۱۰ درصد اسیدهیومیک، در تیمار ۲۵ میلی‌گرم کروم برکیلوگرم، این فاکتور از ۱۴/۴ برای شاهد (Cr25HA0) به ترتیب به ۱۸/۸ و ۲۴/۳ رسید که معادل ۳۰٪ و ۶۸٪ افزایش در این فاکتور نسبت به شاهد مشاهده شد.

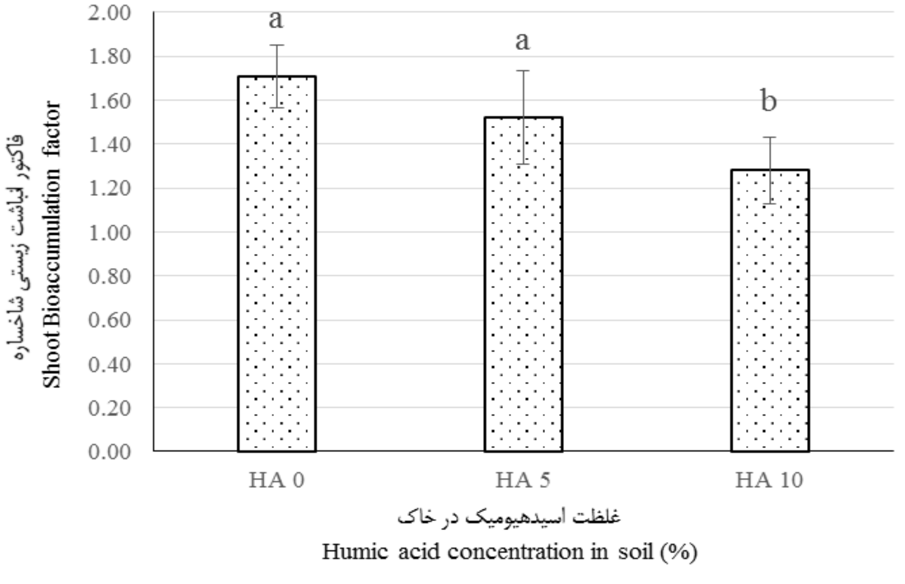
مقایسه انباشت زیستی شاخساره و ریشه، نشان داد فاکتور انباشت در ریشه بیشتر از انباشت زیستی شاخساره می‌باشد. بیشتر بودن این فاکتور در ریشه کاهو گویای این مطلب است که گیاه در مقابله با تنش کروم کارآمدی بالاتری به انباشت این عنصر در ریشه دارد تا انتقال به قسمت‌های خوراکی گیاه. عوامل بیوژئوشیمیایی مختلف مانند وضعیت فیزیکی خاک، حرکت عناصر کمیاب در خاک، بافت و ساختمان خاک، گونه‌های گیاهی و ژنوتیپ‌های موجود در همان گونه‌های گیاهی نقش مهمی در جذب عناصر سنگین در گیاهان دارند. همچنین جابجایی این عناصر در گیاهان تحت تأثیر عوامل متعددی مانند غلظت فلزات سنگین در خاک، شرایط آب و هوایی، نوع خاک و انواع مختلف سبزی‌ها (برگی، میوه و ریشه‌ای)، همچنین زمان برداشت و مرحله بلوغ می‌باشند. همچنین فلزات سنگین به‌طور قابل‌توجهی در سبزی‌های برگ‌دار یا ریشه‌ای در مقایسه با میوه انباشته شده‌اند (Rutigliano *et al.*, 2019). قرشی و همکاران (Qureshi *et al.*, 2016) بیشترین مقدار فاکتور انباشت کروم را در کاهو نسبت به گیاهان مختلف مورد بررسی مشاهده و عنوان کردند که متوسط فاکتور انباشت سبزی‌های برگی بیشتر از غیر برگی می باشد زیرا جذب عناصر توسط گیاه، علاوه بر مقدار آن در خاک، به نوع گیاه و خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه بستگی دارد. کاهو توانایی انباشت غلظت‌های بیشتری از کادمیوم، سرب و کروم را در بافت‌های گیاهی نسبت به سایر سبزی‌های دارد. احتمالاً به دلیل داشتن سطح برگ بیشتر و در نتیجه تعرق بالاتر، انتقال یون‌های فلزی در کاهو با تعرق افزایش می‌یابد (Liu *et al.*, 2021).

1- compartmentalization



شکل ٦- تأثیر سطوح کروم بر فاکتور انباشت زیستی شاخساره در کاهو سالادی رومیرقم 'سیاهو'

Figure 6– The effect of Cr levels on shoot bioaccumulation factor in *Lactuca sativa* L. var. longifolia (LSD, $p < 0.05$)



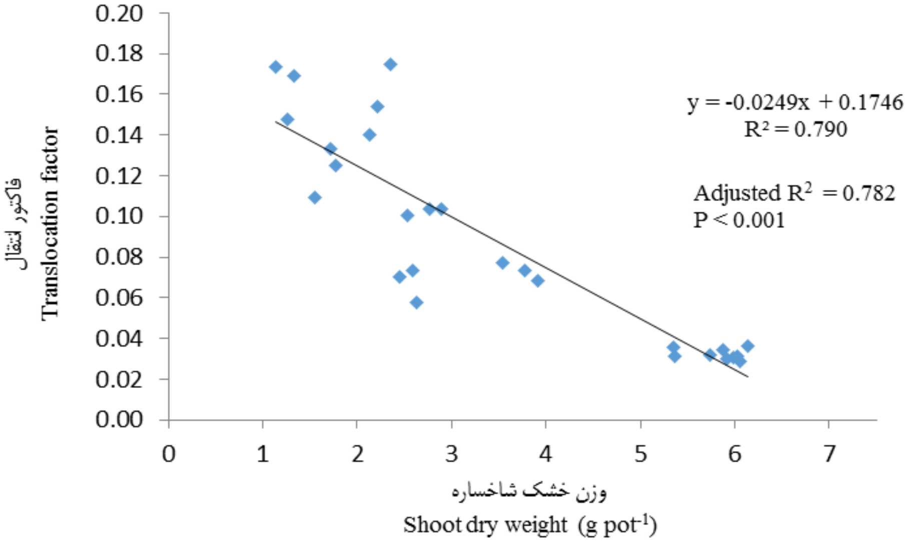
شکل ۷- تأثیر سطوح اسیدهیومیک بر فاکتور انباشت زیستی شاخساره در کاهو سالادی رومیرقم 'سیاهو'

Figure 7– The effect of humic acid levels on shoot bioaccumulation factor in *Lactuca sativa* L. var. longifolia (LSD, $p < 0.05$)

روابط بین وزن خشک و فاکتور انتقال و انباشت زیستی

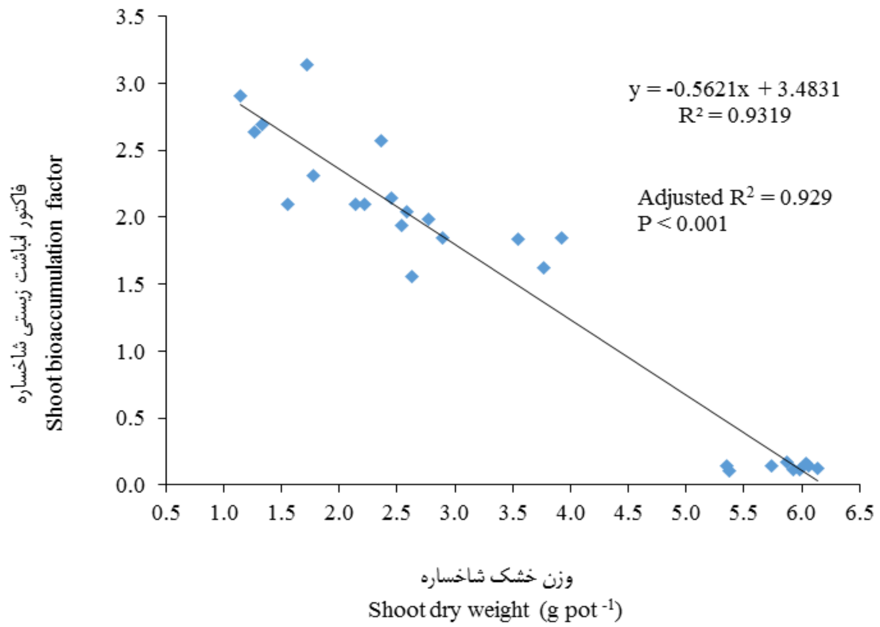
روابط بین فاکتور انتقال و انباشت زیستی کروم با مقدار زیست‌توده گیاهی به درک بهتر تأثیر کروم و ماده اصلاح‌کننده بر تجمع این آلاینده در قسمت‌های خوراکی و ریشه کاهو کمک می‌کنند. با افزایش وزن خشک شاخساره، فاکتور انتقال به‌صورت خطی و معنی‌دار کاهش یافت (R^2 =۰/۷۹)، (P < ۰/۰۰۱) (شکل ۸) که نشان می‌دهد مقادیر کمتری از کروم به قسمت‌های هوایی منتقل

شده و مقادیر بیشتر کروم در ریشه گیاه باقیمانده است. مدل برازش شده توانست ۷۹ درصد از تغییرات را تبیین و با ضریب تبیین اصلاح شده ($Adjusted\ R^2$) ۰/۷۸- فاکتور انتقال را پیش‌بینی کند. در پژوهش‌های پیشین، در اثر غلظت بیشتر کروم در قسمت‌های هوایی گیاه، اثرات نامطلوب بر کاهش جوانه‌زنی بذر، پارامترهای رشد گیاه، سرعت فتوسنتز و درنتیجه کاهش عملکرد گیاه مشاهده شده است (Singh *et al*., 2013).



شکل ۸- رابطه بین وزن خشک شاخساره با فاکتور انتقال در کاهو سالادی رومی رقم 'سیاهو'

Figure 8- Relationship between Shoot dry weight and translocation factor for Cr in *Lactuca sativa* L. var. longifolia



شکل ۹- رابطه بین وزن خشک شاخساره با فاکتور انباشت زیستی کروم شاخساره در کاهو سالادی رومی رقم 'سیاهو'

Figure 9- Relationship between shoot dry weight and shoot bioaccumulation factor for Cr in *Lactuca sativa* L. var. longifolia

افزایش وزن خشک شاخساره، موجب کاهش فاکتور انباشت زیستی شاخساره به‌صورت خطی و معنی‌دار شد (R^2 =۰/۹۳)، (P < ۰/۰۰۱) (شکل ۹). رگرسیون خطی وزن خشک شاخساره کاهو توانست با سطح احتمال (P < ۰/۰۰۱) ۹۳٪ از واریانس فاکتور را تبیین و آن‌را با ضریب تبیین اصلاح شده (Adjusted R^2) ۰/۹۳- درصد پیش‌بینی کند.

به نظر می‌رسد تقسیم‌بندی[1] کروم در گیاهان به کنترل و مدیریت آلاینده‌ها در ریشه بستگی دارد و از اثرات مخرب این عنصر بر مکان‌های فتوسنتز، برگ‌ها و سایر فعالیت‌های متابولیکی جلوگیری می‌کند (Sinha *et al*., 2018) و در نتیجه کاهش انتقال کروم به شاخساره و در نهایت کاهش انباشت کروم در اندام‌های هوایی کاهو موجب افزایش فتوسنتز و در نهایت افزایش زیست‌توده می‌گردد.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که سمیت کروم به‌طور قابل‌توجهی موجب کاهش پارامترهای رشد گیاه به‌عنوان مثال وزن خشک برگ، شاخساره، ساقه و ریشه، همچنین افزایش غلظت کروم در شاخساره و ریشه، فاکتور انتقال، فاکتور انباشت زیستی شاخساره و ریشه در مقایسه با شاهد شد. افزایش ۵ و ۱۰ درصد اسید هیومیک به خاک آلوده به کروم موجب افزایش زیست‌توده گردید. بیشترین مقدار وزن خشک در هر کدام از اجزاء گیاه با کاربرد ۱۰ درصد اسیدهیومیک به دست آمد هر چند در وزن خشک ساقه بین سطوح ۵ و ۱۰ درصد اسیدهیومیک اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد. همچنین کاربرد اسیدهیومیک موجب افزایش غلظت کروم ریشه و فاکتور انباشت ریشه شد؛ از طرفی کاربرد ۵ و ۱۰ درصد اسیدهیومیک غلظت کروم شاخساره، فاکتور انتقال و فاکتور انباشت شاخساره را کاهش داد. بیشترین تأثیر بر پارامتر های اندازه‌گیری شده در این آزمایش در بیشترین سطح اسیدهیومیک (۱۰٪) مشاهده شد هر چند در موارد فاکتور انباشت شاخساره بین سطح ۰ و ۵ درصد اسیدهیومیک و غلظت کروم در ریشه بین سطوح ۵ و ۱۰ درصد اسیدهیومیک تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد. مدلهای رگرسیونی نشان دادند که وزن خشک شاخساره با فاکتور انتقال و انباشت زیستی شاخساره، رابطه خطی و کاهشی داشته و با ضریب تبیین اصلاح شده زیاد، این فاکتورها را پیش‌بینی کردند. پیامد افزودن اسیدهیومیک در خاک آلوده به کروم نشان داد که با کاربرد اسید هیومیک قسمت اعظم کروم جذب شده در ریشه انباشته می‌شود که احتمالاً مربوط به مکانیسم دفاعی گیاه در برابر مقادیر بالای این آلاینده می‌باشد. بهبود رشد ریشه در اثر کاربرد اسیدهیومیک نیز در افزایش رشد گیاه مؤثر می‌باشد.کاهش انتقال به اندام‌های هوایی موجب کاهش انباشت این عنصر در شاخساره – که مکان اصلی فتوسنتز می‌باشد –شده و در نتیجه موجب افزایش وزن خشک اندام هوایی و در نهایت تعدیل اثرات سوء کروم بر کاهو می شود. استفاده از اسید هیومیک می‌تواند روش اقتصادی و سازگار با محیط‌زیست برای کم کردن جذب این آلاینده در قسمت‌های خوراکی گیاه و درنتیجه بهبود نسبی سلامت این محصول پرمصرف باشد.

منابع

1. AKÇİN, A., & AKÇİN, T.A. (2019). Protective effects of humic acid against chromium stress in wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Delabrad-2). *Journal of International Environmental Application and Science*, *14*(2), 50-58.
2. Alashti, S.R., Bahmanyar, M.A., & Abadi, Z.A. (2013). Changes in soil physical properties and concentrations of lead and chromium in spinach affected by enriched municipal compost. *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources*, *17*(63), 1-11. (In Persian with English abstract)
3. Aldmour, S.T., Burke, I.T., Bray, A.W., Baker, D.L., Ross, A.B., Gill, F.L., Cibin, G., Ries, M.E., & Stewart, D. I. (2019). Abiotic reduction of Cr(VI) by humic acids derived from peat and lignite: kinetics and removal mechanism. *Environmental Science and Pollution Research*, *26*(5), 4717–4729. https://doi.org/10.1007/s11356-018-3902-1
4. Alfaro, M.R., Ugarte, O.M., Lima, L.H.V., Silva, J.R., da Silva, F.B.V., da Silva Lins, S.A., & do Nascimento, C.W.A. (2022). Risk assessment of heavy metals in soils and edible parts of vegetables grown on sites contaminated by an abandoned steel plant in Havana. *Environmental Geochemistry and Health*, 1-14.
5. Ali, S., Bharwana, S.A., Rizwan, M., Farid, M., Kanwal, S., Ali, Q., Ibrahim, M., Gill, R.A., & Khan, M.D. (2015). Fulvic acid mediates chromium (Cr) tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.) through lowering of Cr

1- partitioning

uptake and improved antioxidant defense system. *Environmental Science and Pollution Research*, *22*(14), 10601–10609. https://doi.org/10.1007/s11356-015-4271-7
6. Banks, M.K., Schwab, A.P., & Henderson, C. (2006). Leaching and reduction of chromium in soil as affected by soil organic content and plants. *Chemosphere*, *62*(2), 255-264.
7. Bremner, J.M. (1996). *Total nitrogen*. p.1085-1122. In: D. L. Sparks *et al*. (ed.) Methods of Soil Analysis. Part 3, SSSA, ASA, Madison,WI.
8. Bouyoucos, G.J. (1962). Hydrometer method improved for making particle size analyses of soils 1. *Agronomy Journal*, *54*(5), 464-465. https://doi.org/10.2134/agronj1962.00021962005400050028x
9. Chen, M., & Ma, L. Q. (2001). Comparison of three aqua regia digestion methods for twenty Florida soils. *Soil Science Society of America Journal*, *65*(2), 491-499. https://doi.org/10.2136/sssaj2001.652491x
10. Chen, S.Y., Huang, S.W., Chiang, P.N., Liu, J.C., Kuan, W.H., Huang, J.H., Hung, J.T., Tzou, Y.M., Chen, C.C., & Wang, M.K. (2011). Influence of chemical compositions and molecular weights of humic acids on Cr(VI) photo-reduction. *Journal of Hazardous Materials*, *197*, 337–344. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.09.091
11. Christou, A., Georgiadou, E.C., Zissimos, A.M., Christoforou, I.C., Christofi, C., Neocleous, D., Dalias, P., & Fotopoulos, V. (2021a). Uptake of hexavalent chromium by *Lactuca sativa* and *Triticum aestivum* plants and mediated effects on their performance, linked with associated public health risks. *Chemosphere*, *267*, 128912. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128912
12. Christou, A., Georgiadou, E.C., Zissimos, A.M., Christoforou, I.C., Christofi, C., Neocleous, D., Dalias, P., Ioannou, A., & Fotopoulos, V. (2021b). Uptake of hexavalent chromium by tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants and mediated effects on their physiology and productivity, along with fruit quality and safety. *Environmental and Experimental Botany*, *189*, 104564. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2021.104564
13. Dhal, B., Thatoi, H.N., Das, N.N., & Pandey, B.D. (2013). Chemical and microbial remediation of hexavalent chromium from contaminated soil and mining/metallurgical solid waste: A review. *Journal of Hazardous Materials*, *250–251*, 272–291. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.01.048
14. Dias, M.C., Moutinho-Pereira, J., Correia, C., Monteiro, C., Araújo, M., Brüggemann, W., & Santos, C. (2016). Physiological mechanisms to cope with Cr(VI) toxicity in lettuce: can lettuce be used in Cr phytoremediation? *Environmental Science and Pollution Research*, *23*(15), 15627–15637. https://doi.org/10.1007/s11356-016-6735-9
15. Ertani, A., Mietto, A., Borin, M., & Nardi, S. (2017). Chromium in Agricultural Soils and Crops: A Review. *Water, Air, and Soil Pollution*, *228*(5). https://doi.org/10.1007/s11270-017-3356-y
16. Sauerbeck, D.R. (1991). Plant element and soil properties governing uptake and availability of heavy metals derived from sewage sludge. *Water, Air, and Soil Pollution*, *57*, 227-237.
17. Gill, R.A., Zang, L., Ali, B., Farooq, M.A., Cui, P., Yang, S., Ali, S., & Zhou, W. (2015). Chromium-induced physio-chemical and ultrastructural changes in four cultivars of *Brassica napus* L. *Chemosphere*, *120*, 154–164. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.06.029
18. Huang, S.W., Chiang, P.N., Liu, J.C., Hung, J.T., Kuan, W.H., Tzou, Y.M., Wang, S.L., Huang, J.H., Chen, C.C., Wang, M.K., & Loeppert, R.H. (2012). Chromate reduction on humic acid derived from a peat soil - Exploration of the activated sites on HAs for chromate removal. *Chemosphere*, *87*(6), 587–594. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.01.010
19. Hou, J., Liu, G.N., Xue, W., Fu, W.J., Liang, B.C., & Liu, X.H. (2014). Seed germination, root elongation, root-tip mitosis, and micronucleus induction of five crop plants exposed to chromium in fluvo-aquic soil. *Environmental Toxicology and Chemistry*, *33*(3), 671-676. https://doi.org/10.1002/etc.2489
20. Jahanbakhshi, S., Rezaei, M.R., & Sayyari-Zahan, M.H. (2014). Study of phytoremediation of soil contaminated by cadmium and chromium and their bio-accumulation in spinach plant (*Spinacia oleracea*). *Journal of Natural Environment*, *66*(3). (In Persian with English abstract)
21. Janoš, P., Hůla, V., Bradnová, P., Pilařová, V., & Šedlbauer, J. (2009). Reduction and immobilization of hexavalent chromium with coal- and humate-based sorbents. *Chemosphere*, *75*(6), 732–738. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.01.037
22. Kalčíková, G., Zupančič, M., Jemec, A., & Žgajnar Gotvajn, A. (2016). The impact of humic acid on chromium phytoextraction by aquatic macrophyte *Lemna minor*. *Chemosphere*, *147*, 311–317. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.12.090
23. Kim, I.S., Kang, K.H., Johnson-Green, P., & Lee, E.J. (2003). Investigation of heavy metal accumulation in *Polygonum thunbergii* for phytoextraction. *Environmental Pollution*, *126*(2), 235-243.
24. Li, Y., Wang, W., Zhou, L., Liu, Y., Mirza, Z.A., & Lin, X. (2017). Remediation of hexavalent chromium spiked soil by using synthesized iron sulfide particles. *Chemosphere*, *169*, 131–138. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.11.060

25. Liu, X., Gu, S., Yang, S., Deng, J., & Xu, J. (2021). Heavy metals in soil-vegetable system around E-waste site and the health risk assessment. *Science of the Total Environment*, *779*, 146438. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146438
26. Loeppert, R.H., & Suarez, D.L. (1996). Carbonate and gypsum. *Methods of soil analysis: Part 3 chemical methods*, *5*, 437-474
27. Ma, J., Lv, C., Xu, M., Chen, G., Lv, C., & Gao, Z. (2016). Photosynthesis performance, antioxidant enzymes, and ultrastructural analyses of rice seedlings under chromium stress. *Environmental Science and Pollution Research*, *23*(2), 1768–1778. https://doi.org/10.1007/s11356-015-5439-x
28. Oliveira, H. (2012). Chromium as an environmental pollutant: insights on induced plant toxicity. *Journal of Botany*, *2012*, 1–8. https://doi.org/10.1155/2012/375843
29. Quevauviller, P., Lachica, M., Barahona, E., Gomez, A., Rauret, G., Ure, A., & Muntau, H. (1998). Certified reference material for the quality control of EDTA-and DTPA-extractable trace metal contents in calcareous soil (CRM 600). *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, *360*, 505-511.
30. Qureshi, A.S., Hussain, M.I., Ismail, S., & Khan, Q.M. (2016). Evaluating heavy metal accumulation and potential health risks in vegetables irrigated with treated wastewater. *Chemosphere*, *163*, 54-61.
31. Park, J.H. (2020). Contrasting effects of Cr (III) and Cr (VI) on lettuce grown in hydroponics and soil: Chromium and manganese speciation. *Environmental Pollution*, *266*, 115073.
32. Raptis, S., Gasparatos, D., Economou-Eliopoulos, M., & Petridis, A. (2018). Chromium uptake by lettuce as affected by the application of organic matter and Cr(VI)-irrigation water: Implications to the land use and water management. *Chemosphere*, *210*(Vi), 597–606. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.07.046
33. Riaz, M., Yasmeen, T., Arif, M.S., Ashraf, M.A., Hussain, Q., Shahzad, S.M., Rizwan, M., Mehmood, M.W., Zia, A., Mian, I.A., & Fahad, S. (2019). Variations in morphological and physiological traits of wheat regulated by chromium species in long-term tannery effluent irrigated soils. *Chemosphere*, *222*, 891–903. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.01.170
34. Richards, L.A. (Ed.). (1954). *Diagnosis and improvement of saline and alkali soils* (No. 60). US Government Printing Office.
35. Rutigliano, F.A., Marzaioli, R., De Crescenzo, S., & Trifuoggi, M. (2019). Human health risk from consumption of two common crops grown in polluted soils. *Science of the Total Environment*, *691*, 195–204. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.07.037
36. Saha, R., Nandi, R., & Saha, B. (2011). Sources and toxicity of hexavalent chromium. *Journal of Coordination Chemistry*, *64*(10), 1782–1806. https://doi.org/10.1080/00958972.2011.583646
37. Sauerbeck, D.R. (1991). Plant element and soil properties governing uptake and availability of heavy metals derived from sewage sludge. *Water, Air, and Soil Pollution*, *57*, 227-237.
38. Shahid, M., Shamshad, S., Rafiq, M., Khalid, S., Bibi, I., Niazi, N.K., Dumat, C., & Rashid, M.I. (2017). Chromium speciation, bioavailability, uptake, toxicity and detoxification in soil-plant system: A review. *Chemosphere*, *178*, 513–533. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.03.074
39. Shaker, M.A., & Albishri, H.M. (2014). Dynamics and thermodynamics of toxic metals adsorption onto soil-extracted humic acid. *Chemosphere*, *111*, 587–595. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.04.088
40. Shanker, A.K., Cervantes, C., Loza-Tavera, H., & Avudainayagam, S. (2005). Chromium toxicity in plants. *Environment International*, *31*(5), 739–753. https://doi.org/10.1016/j.envint.2005.02.003
41. Singh, H.P., Mahajan, P., Kaur, S., Batish, D.R., & Kohli, R.K. (2013). Chromium toxicity and tolerance in plants. *Environmental Chemistry Letters*, *11*(3), 229–254. https://doi.org/10.1007/s10311-013-0407-5
42. Sinha, V., Pakshirajan, K., & Chaturvedi, R. (2018). Chromium tolerance, bioaccumulation and localization in plants: An overview. *Journal of Environmental Management*, *206*, 715–730. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.10.033
43. Tüfenkçi, Ş., Türkmen, Ö., Sönmez, F., Erdinç, Ç., & Şensoy, S. (2006). Effects of humic acid doses and aplication times on the plant growth, nutrient and heavy metal contents of lettuce grown on sewage sludge-applied soils. *Fresenius Environmental Bulletin*, *15*(4), 295–300.
44. Valdrighi, M.M., Pera, A., Agnolucci, M., Frassinetti, S., Lunardi, D., & Vallini, G. (1996). Effects of compost-derived humic acids on vegetable biomass production and microbial growth within a plant (*Cichorium intybus*)-soil system: A comparative study. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, *58*(2–3), 133–144. https://doi.org/10.1016/0167-8809(96)01031-6
45. Wakeel, A., & Xu, M. (2020). Chromium morpho-phytotoxicity. *Plants*, *9*(5), 564. https://doi.org/10.3390/plants9050564
46. Walkley, A., & Black, I.A. (1934). An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science*, *37*(1), 29-38.

47. Wang, C., Gu, L., Ge, S., Liu, X., Zhang, X., & Chen, X. (2019). Remediation potential of immobilized bacterial consortium with biochar as carrier in pyrene-Cr (VI) co-contaminated soil. *Environmental Technology*, *40*(18), 2345-2353. https://doi.org/ 10.1080/09593330.2018.1441328
48. Wu, M., Li, G., Jiang, X., Xiao, Q., Niu, M., Wang, Z., & Wang, Y. (2017). Non-biological reduction of Cr(VI) by reacting with humic acids composted from cattle manure. *RSC Advances*, *7*(43), 26903–26911. https://doi.org/10.1039/c6ra28253a
49. Yang, Z., Zhang, X., Jiang, Z., Li, Q., Huang, P., Zheng, C., Liao, Q., & Yang, W. (2021). Reductive materials for remediation of hexavalent chromium contaminated soil – A review. *Science of the Total Environment*, *773*. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145654
50. Zhang, J., Yin, H., Wang, H., Xu, L., Samuel, B., Chang, J., Liu, F., & Chen, H. (2019). Molecular structure-reactivity correlations of humic acid and humin fractions from a typical black soil for hexavalent chromium reduction. *Science of the Total Environment*, *651*, 2975–2984. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.10.165
51. Zhao, Y., Hu, C., Wang, X., Qing, X., Wang, P., Zhang, Y., Zhang, X., & Zhao, X. (2019). Selenium alleviated chromium stress in Chinese cabbage (*Brassica campestris* L. ssp. Pekinensis) by regulating root morphology and metal element uptake. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *173*, 314–321. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.01.090

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

CC BY

Research Article
Vol. 37, No. 2, Summer 2023, p. 561-575

The Effect of Melatonin on Some Physiological and Morphological Characteristics of *Coriandrum sativum* L. and *Anethum graveolens* L. under Salt Stress

M. Cheraghi[1], A.A. Hatamnia[2]*, F. Ghanbari[3]

Received: 18-08-2022
Revised: 19-10-2022
Accepted: 30-11-2022
Available Online: 30-11-2022

How to cite this article:
Cheraghi, M., Hatamnia, A.A., & Ghanbari, F. (2023). The effect of melatonin on some physiological and morphological characteristics of *Coriandrum sativum* L. and *Anethum graveolens* L. under salt stress. *Journal of Horticultural Science*, *37*(2), 561-575. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jhs.2022.78109.1189

Introduction

Salinity is the most important environmental parameter limiting plant growth and productivity. The detrimental effects of high salinity on plants can be observed at the whole-plant level as the death of plants and/or decreases in productivity. Increasing salinity is accompanied by significant reductions in number of leaves per plant, shoot weight, root weight, shoot length, and root length. With an increase in salinity, water potential and osmotic potential of plants become more negative. Two medicinal species of *Coriandrum sativum* L. and *Anethum graveolens* L. are herbaceous and annual plants of the Apiaceae family, which have many uses in the pharmaceutical and food industries. Considering the importance of these two medicinal species and the increase of environmental stresses including salinity stress in recent years, this research aims to investigate the effect of external application of melatonin on resistance to salinity stress in *Coriandrum sativum* L. and *Anethum graveolens* L. species and its effect on some morphological and physiological characteristics of these two species under salt stress.

Materials and Methods

This research was conducted in a factorial experimental format based on a randomized complete block design with three replications. Experimental treatments include five levels of salinity (0, 40, 80, 120 and 160 mM) and two levels of melatonin foliar spraying (0 and 100 µM). After the end of the treatment period, the morphological and physiological characteristics of the plant were measured by the different methods. Data analyses were performed using SPSS software version 20. Results were analyzed using one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey’s multiple comparison test. The results were expressed as mean values and standard error (SE) of the means.

Results and Discussion

The results of variance analysis indicated that species, melatonin and salinity stress have a significant effect on all morphological factors at the $p < 0.05$. The results of compare means showed that the number of leaves in both plants has a significant decrease at the probability level of 5% with the increase in salinity. However, the amount of this decrease in the samples that have been affected by melatonin is lower than the samples without melatonin. The use of melatonin has reduced the negative effects of salinity stress in two plants, so that at the salinity level of 160 mM sodium chloride, the use of melatonin has increased the fresh and dry weight of *coriandrum sativum* L. shoots by 7 and 3.61 times, respectively. The results of variance analysis

1 and 2- M.Sc Student and Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Science, Ilam University, Ilam, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: a.hatamnia@ilam.ac.ir)
3- Assistant Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran
DOI: 10.22067/JHS.2022.78109.1189

showed that melatonin and salinity stress have a significant effect on all pigments. The results shown that with the increase in the level of salinity stress, a significant decrease ($p < 0.05$) was observed in the amount of chlorophyll and anthocyanin pigments of two species. The results of variance analysis showed that species and melatonin have a significant effect at the $p < 0.01$ on all physiological parameters, and salt stress has a significant effect at the $p < 0.01$ on all the physiological parameters except of relative water content. Also, the interaction effects of species with salinity, species with melatonin, melatonin with salinity and the interaction of all three factors have a significant effect at the 1% probability level on the parameters of proline and total phenol.With the increase in salinity, the amount of total protein in both species decreased, but the amount of this decrease was lower in the plants that were treated with melatonin. In *coriandrum sativum* L. plant, the amount of total protein reduction at 160 mM salinity level is 42.31% compared to the control, but this reduction was 28.9% in the plants that were treated with melatonin. Also, in the *Anethum graveolens* L., the amount of total protein reduction at the salinity level of 160 mM was 29.78% and 21.06% respectively, in the samples without melatonin treatment and under melatonin treatment.

Conclusions

The results of variance analysis of the data showed that melatonin has a significant effect at the probability level of 1 and 5% on all morphological and physiological parameters measured in both plants. Also, the compare means showed that with the increase in the level of salinity stress, a significant decrease in the probability level of 5% was observed in the parameters measured in two plants. In general, the external application of melatonin moderates the negative effects of salinity stress, and therefore melatonin can be used to improve the growth of plants under stress.

Keywords: Chlorophyll pigments, Proline, Total protein, Total phenol

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

مقاله پژوهشی
جلد ۳۷، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۲، ص. ۵۷۵-۵۶۱

تأثیر ملاتونین بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی گشنیز (*Coriandrum sativum* L.) و شوید (*Anethum graveolens* L.) تحت شرایط تنش شوری

میلاد چراغی[1]- علی اصغر حاتم نیا[2]*- فردین قنبری[3]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۵/۲۷
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۷/۲۷
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۹/۰۹

چکیده

دو گونه دارویی گشنیز (*Coriandrum sativum* L.) و شوید (*Anethum graveolens* L.) گیاهانی علفی و یکساله از خانواده چتریان هستند که کاربردهای متعددی در صنایع دارویی و غذایی دارند. ملاتونین در گیاهان به‌عنوان محرک زیستی یا مولکول تحریک‌کننده رشد مورد ارزیابی قرار گرفته است و موجب افزایش تحمل به تنش‌های زنده و غیرزنده و بهبود رشد و توسعه گیاه می‌شود. این پژوهش در قالب آزمایشی فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام در سال ۱۴۰۰ انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل پنج سطح شوری (صفر، ۴۰، ۸۰، ۱۲۰ و ۱۶۰ میلی‌مولار) و دو سطح محلول‌پاشی برگی ملاتونین (صفر و ۱۰۰ میکرومولار) است. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که با افزایش سطح تنش شوری کاهش معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد در پارامترهای اندازه‌گیری شده در دو گیاه گشنیز و شوید مشاهده شده است. با این حال، کاربرد ملاتونین سبب کاهش اثرات منفی تنش شوری در دو گیاه شده است، به‌طوری‌که در سطح شوری ۱۶۰ میلی‌مولار کلرید سدیم کاربرد ملاتونین به ترتیب سبب افزایش ۶ و ۳/۶۱ برابری وزن تر و خشک شاخساره گیاه گشنیز شده است. نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که ملاتونین اثر معنی‌داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد بر روی همه پارامترهای مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی اندازه‌گیری شده در هر دو گیاه دارد. گونه، تنش شوری، ملاتونین و اثرات متقابل آنها دارای تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد بر روی میزان پرولین و فنل کل بوده است. نتایج نشان داد که با افزایش سطح شوری میزان پروتئین کل در هر دو گیاه گشنیز و شوید کاهش یافته است، ولی میزان این کاهش در نمونه‌هایی که تحت تیمار ملاتونین قرار گرفته بودند کمتر می‌باشد. در گیاه گشنیز میزان کاهش پروتئین کل در سطح شوری ۱۶۰ میلی‌مولار نسبت به شاهد ۴۲/۳۱ درصد می‌باشد ولی این کاهش در نمونه‌هایی که تحت تیمار ملاتونین قرار گرفتند ۲۸/۹ درصد بود. به‌طورکلی می‌توان گفت که کاربرد خارجی ملاتونین سبب تعدیل اثرات منفی تنش شوری شده و بنابراین می‌توان از ملاتونین جهت بهبود رشد گیاهان تحت تنش استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: پروتئین کل، پرولین، رنگیزه‌های کلروفیل، فنل کل

مقدمه

تنش نتیجه‌ی روند غیرعادی فرآیندهای فیزیولوژیکی است که از تأثیر یک یا ترکیبی از عوامل زیستی و محیطی حاصل می‌شود (Levitt, 1980). تنش‌های محیطی به طور کلی حدود ۷۱ درصد از عملکرد گیاهان زراعی را کاهش می‌دهند که در این میان افت عملکرد در اثر دمای بالا ۱۵ درصد، دمای پایین ۴۰ درصد، تنش خشکی ۱۷ درصد و تنش شوری ۲۰ درصد برآورد شده است (Ashraf and Harris, 2005). تنش شوری یکی از مهم‌ترین تنش های محیطی است که تولید محصولات زراعی و دارویی را با مشکل مواجه کرده است. سمیت یونی، تنش اسمزی و کمبود مواد مغذی که در شرایط وقوع شوری رخ می دهد، سبب بهم خوردن توازن

۱ و ۲- به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران
(*- نویسنده مسئول: (Email: a.hatamnia@ilam.ac.ir
۳- استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران
DOI: 10.22067/JHS.2022.78109.1189

متابولیکی و در پی آن تنش اکسیداتیو می‌گردند. انباشتگی نمک در برگ‌ها باعث پیری زودرس، کاهش ساخت آسیمیلات‌ها برای نواحی رشدی و در نتیجه کاهش رشد گیاه می‌شود (Parida and Das, 2005).

استفاده از محرک‌های زیستی به منظور افزایش کیفیت و پایداری عملکرد گیاهان زراعی و دارویی از اهمیت بالایی برخوردار است. از موادی که اخیراً به‌صورت کاربرد خارجی جهت افزایش مقاومت گیاهان به تنش‌ها و یا افزایش عملکرد و کیفیت آنها در شرایط مزرعه استفاده می‌شود، ملاتونین است. ملاتونین (N-استیل ۵-متوکسی تریپتامین) با فرمول شیمیایی $C_{13}H_{16}N_2O_2$ هورمونی طبیعی از تیپ ایندول‌آمین مشتق شده از تریپتوفان (اناستیل ۵ متوکسی تریپتامین) است که در موجودات مختلف از جمله پروکاریوت‌ها، یوکاریوت‌های تک یاخته‌ای، قارچ‌ها، جلبک‌ها، جانوران و گیاهان به اثبات رسید (Janas and Posmyk, 2013). ملاتونین در گیاهان به‌طور طبیعی سنتز می‌شود و به‌طور گسترده‌ای در غلظت‌های مختلف در گیاهان وجود دارد و به‌عنوان محرک زیستی یا مولکول تحریک‌کننده رشد مورد ارزیابی قرار گرفته است و موجب افزایش تحمل به تنش‌های زنده و غیرزنده و بهبود رشد و توسعه گیاه می‌شود و همچنین گزارش شده است که ملاتونین ایفاگر عملکردهای ضروری در تنظیم رشد و نمو گیاه شامل فرآیندهای تحریک رشد رویشی، جوانه‌زنی، ریشه‌دهی و گلدهی است و از نظر مسیر بیوسنتز و اعمال فیزیولوژیک دارای اشتراکاتی با هورمون شناخته شده ایندول استیک اسید است (Arnao and Hernandez-Ruiz, 2014; Li *et al.*, 2017; Janas and Posmyk, 2013; Tan *et al.*, 2012). در گیاهان، ملاتونین به‌عنوان یک نوع تنظیم کننده رشد گیاهی، شبیه نقش ایندول استیک اسید (IIA)، در افزایش رشد سلول‌ها برای تسریع رشد عمل می‌کند (Zhang *et al.*, 2013). ملاتونین به عنوان خط اول دفاع و حس‌گر داخلی تنش اکسیداتیو در گیاهان گزارش شده است (Tan *et al.*, 2011).

مکانیسمی که ملاتونین رشد ریشه و بخش هوایی را در گیاهان افزایش می‌دهد به خوبی شناخته نشده است، اما احتمال دارد که ملاتونین تعادل هورمونی را در گیاه تغییر داده و تحت شرایط تنش، سبب افزایش اکسین و سیتوکنین می‌شود (Chen *et al.*, 2009). ملاتونین به عنوان جاروب کننده عوامل اکسیداتیو و متعادل‌کننده فرآیندهایی که تعادل ردوکس سلول را تغییر می‌دهند، می‌تواند در متحمل کردن گیاهان به نمک گزینه مناسبی باشد (Park and Back, 2012). در مطالعات مختلف اثرات مثبت ملاتونین در تعدیل عوامل تنش‌زا به اثبات رسیده است (Zhang *et al.*, 2014). در مطالعه‌ای مشاهده شد، محلول‌پاشی با ملاتونین باعث بهبود تنظیم اسمزی و حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن شد و اثرات منفی تنش خشکی بر فتوسنتز را کاهش داد و رشد و عملکرد گیاه سویا را بالا برد (Zou *et al.*, 2019).

دو گونه دارویی گشنیز (*Coriandrum sativum* L.) و شوید (*Anethum graveolens* L.) گیاهانی علفی و یکساله از خانواده چتریان هستند که کاربردهای متعددی در صنایع و دارویی و غذایی دارند (Omidbaigi, 2000; Mahram *et al.*, 1992; Sefidkon, 2001). با توجه به اهمیت این دو گونه دارویی و افزایش تنش‌های محیطی از جمله تنش شوری در طی سال‌های اخیر، این پژوهش با هدف بررسی تاثیر فیتوهورمون ملاتونین بر مقاومت به تنش شوری در گونه‌های دارویی گشنیز و شوید و تأثیر آن بر برخی خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی این دو گونه، تحت سطوح مختلف تنش شوری انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در قالب آزمایشی فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام در سال ۱۴۰۰ انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل پنج سطح شوری (صفر، ۴۰، ۸۰، ۱۲۰ و ۱۶۰ میلی‌مولار) و دو سطح محلول‌پاشی برگی ملاتونین (صفر و ۱۰۰ میکرومولار) است. بذرهای گونه‌های گشنیز و شوید در گلدان‌هایی با قطر دهانه ۱۴ سانتی‌متر که به نسبت ۲: ۱: ۱ از خاک زراعی، کود دامی پوسیده و ماسه‌بادی پر شده بودند، در شرایط دمایی ۲۵ درجه‌سانتی‌کاشته شدند و بعد از سبز شدن و استقرار کامل گیاهچه‌ها اقدام به تنک کردن گیاهچه‌ها شد. تا استقرار کامل گیاهان گلدان‌ها با آب معمولی آبیاری می‌شدند، بعد از استقرار کامل گیاهان، اقدام به اعمال تیمار شوری در سطوح مختلف (صفر، ۴۰، ۸۰، ۱۲۰ و ۱۶۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) شد و گیاهچه‌ها هفته‌ای دو بار با تیمارهای شوری مورد نظر، آبیاری می‌شدند. لازم به ذکر است که به‌منظور جلوگیری از تجمع نمک هر دو هفته یکبار گلدان‌ها با آب معمولی آبیاری می‌شدند، همچنین اعمال تیمار شوری همراه با زه آب بود و به این ترتیب تجمع نمک در گلدان‌ها به حداقل رسید. همچنین تیمار ملاتونین در طول دوره رشد سه بار به‌صورت محلول‌پاشی برگی بعد از اعمال شوری اعمال گردید. پس از پایان دوره اعمال تیمارها، صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه به روش‌های ذیل اندازه‌گیری شدند.

برای اندازه‌گیری طول بخش هوایی و ریشه با استفاده از خط‌کش طول شاخساره و ریشه از طوقه اندازه‌گیری و بر حسب سانتی‌متر گزارش شد. برای اندازه گیری وزن تر شاخساره و ریشه، شاخساره و ریشه گیاه از محل طوقه قطع شده و جداگانه توزین شدند. برای اندازه گیری وزن خشک شاخساره و ریشه، شاخساره‌ها و ریشه‌های جدا شده در پاکت‌های کاغذی قرار داده شدند و در آون با دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند تا کاملاً خشک

شوند و سپس اقدام به توزین وزن خشک شاخساره و ریشه شد.

برای سنجش میزان رنگیزه‌های کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل از روش پورا (Porra, 2002)، کاروتنوئید از روش لیختن تالر و ولبورن (Lichtenthaler and Wellburn, 1983) و آنتوسیانین از روش سیمز و گامون (Sims and Gamon, 2002) استفاده شد. ابتدا مقدار ۰/۱ گرم از برگ‌های تازه گیاه در پنج میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد در داخل هاون چینی ساییده شد. سپس یک میلی لیتر از محلول رویی حاصل از سانتریفوژ با ۴ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد مخلوط شد. پس از آن میزان جذب با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۴۷۰، ۵۳۷، ۶۴۷، ۶۶۳، ۶۶۳/۶ و ۶۴۶/۶ نانومتر قرائت شدند و نهایتاً غلظت رنگیزه‌های مختلف با استفاده از روابط زیر محاسبه شدند.

$$Chl\ a = (12.25 \times A663.6 - 2.55 \times A646.6)$$
$$Chl\ b = (20.31 \times A646.6 - 4.91 \times A663.6)$$
$$Total\ Chl = (17.76 \times A646.6 + 34 \times A663.6)$$
$$Carten = (1000 \times A470 - 3.27 \times chl\ a - 104 \times chl\ b) \div 227$$
$$Anthocyanin = (0.08173 \times A537 - 0.00697 \times A647 - 0.002228 \times A663)$$

در این رابطه A نیز میزان جذب قرائت شده توسط دستگاه اسپکترومتر در طول موج‌های معین شده است.

برای ارزیابی میزان نفوذپذیری غشاء، میزان نشت یونی برگ با استفاده از روش لوتس و همکاران (Lutts *et al.*, 1996) ارزیابی شد. برای این منظور تعداد ۶ دیسک برگی به صورت تصادفی از گیاهان هر تیمار از جوان‌ترین برگ‌های کاملاً توسعه یافته، به لوله‌های آزمایش با حجم ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر انتقال یافت و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق و شدت نورکم قرار داده شدند. هدایت الکتریکی آب مقطر همراه نمونه‌ها (EC1) توسط دستگاه EC متر اندازه‌گیری شد. سپس لوله‌های آزمایش در حمام آب جوش (۹۵ درجه سانتی‌گراد) به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفتند و پس از سرد شدن آن‌ها مجدداً EC2 اندازه‌گیری شد و در نهایت نشت الکترولیتی با معادله زیر محاسبه گردید.

$$EC\% = [\ EC1/EC2] \times 100$$

در این رابطه EC نشت الکترولیتی و EC1 و EC2 نیز به ترتیب هدایت الکترولیتی قبل و بعد از حمام آب جوش هستند.

به‌منظور اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ (RWC) بعد از توزین برگ‌های تازه، آنها را در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد و زیر نور چراغ با شدت روشنایی ۶۰۰ تا ۷۰۰ لوکس در داخل آب قرار داده شدند، تا برگ‌ها به اندازه نیاز آب جذب نماید و پس از ۴ تا ۶ ساعت به حالت آماس درآیند. بعد از خشک کردن برگ‌های آماس شده وزن آنها اندازه‌گیری شد. پس از توزین، برگ‌ها در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد آون، به مدت ۲۴ ساعت خشک شدند. وزن برگ ها پس از خشک شدن نیز اندازه‌گیری و مقدار محتوای نسبی آب برگ از معادله زیر حساب شد.

$$RWC = F_w - D_w / S_w - D_w \times 100$$

در این رابطه F_w: وزن تر، D_w: وزن خشک و S_w: وزن اشباع برگ، می‌باشند.

به‌منظور اندازه‌گیری محتوای پرولین برگ از روش بیتس و همکاران (Bates *et al.*, 1973) استفاده شد. ابتدا ۵۰۰ میلی گرم بافت زنده گیاهی در ۱۰ میلی‌لیتر محلول اسید سولفوسالیسیلیک (۳٪) در هاون ساییده، سپس ۲ میلی‌لیتر از عصاره صاف شده با ۲ میلی‌لیتر معرف اسید نین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسیداستیک گلاسیال مخلوط شدند. سپس لوله‌ها به مدت یک ساعت در بن‌ماری و در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند، پس از خروج، نمونه‌ها در حمام یخ به‌مدت ۳۰ دقیقه نگهداری شده و سپس ۴ میلی‌لیتر تولوئن به محتوای هر لوله اضافه و به مدت ۳۰ ثانیه به‌وسیله ورتکس مخلوط گردیدند. بعد از انکوباسیون در دمای اتاق و ایجاد دو لایه مجزا، سرانجام جذب نوری لایه رنگی فوقانی در طول موج ۵۲۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت و مقدار پرولین با استفاده از منحنی استاندارد تعیین گردید.

به‌منظور اندازه‌گیری پروتئین، عصارهٔ آنزیمی، از ساییده شدن ۰/۲ گرم بافت تازه گیاهی در ۲ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار (با اسیدیتهٔ ۶/۸) تهیه شد و سپس به‌مدت ۱۵ دقیقه در ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. فاز رویی برای اندازه‌گیری پروتئین محلول استفاده شد. برای اندازه‌گیری پروتئین به روش برادفورد (Bradford, 1976) به یک میلی‌لیتر از معرف برادفورد، ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی اضافه شد و پس اختلاط کامل در دستگاه اسپکتروفتومتر قرار داده شد و جذب آن در طول موج ۵۹۵ نانومتر ثبت گردید. غلظت پروتئین بر حسب میلی‌گرم بر گرم بافت تازه با استفاده از منحنی استاندارد در غلظت‌های ۲۰ تا ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر که توسط آلبومین گاوی تهیه شده بود، محاسبه شد.

برای اندازه‌گیری مقدار فنل کل از روش فولین–سیوکالته استفاده شد (Singleton and Rossi, 1965). به این منظور ۰/۱ گرم نمونه برگی با اضافه کردن سه میلی‌لیتر متانول ۸۵ درصد ساییده شد و پس از صاف کردن آن با کاغذ صافی، ۳۰۰ میکرولیتر آن برداشته شد و به آن ۱۵۰۰ میکرولیتر معرف فولین ۱۰ درصد اضافه گردید و به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفت. سپس به آن ۱/۲ میلی‌لیتر کربنات ۷ درصد اضافه شده و پس از دو ساعت تکان دادن روی شیکر در دمای اتاق، جذب محلول در طول موج ۷۶۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. با استفاده از استاندارد اسید گالیک مجموع فنل به صورت میلی‌گرم اسید گالیک در ۱۰۰ گرم وزن تازه بیان شد.

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ انجام شد. تمامی آزمایش‌ها در سه تکرار انجام شد. داده‌ها با استفاده از تجزیه واریانس تک‌سویه (ANOVA) به روش GLM صورت گرفت و میانگین‌ها توسط آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد ($P<0.05$) مقایسه شدند.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که گونه، ملاتونین، تنش شوری و اثرات متقابل گونه و تنش شوری دارای تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد بر همه پارامترهای مورفولوژیکی می‌باشند، با این حال، اثر متقابل گونه، ملاتونین و تنش شوری روی هیچ‌کدام از پارامترهای مورفولوژیکی اثر معنی‌داری نداشتند (جدول ۱).

جدول ۱- تجزیه واریانس کاربرد ملاتونین بر ویژگی‌های مورفولوژی گیاه گشنیز و شوید تحت تنش شوری

Table 1- ANOVA for the effect of melatonin application on the morphological traits of *Coriandrum sativum* L. and *Anethum graveolens* L. under salinity stress

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean squares						
		طول شاخساره Shoot length	طول ریشه Root length	وزن تر شاخساره Shoot fresh weight	وزن خشک شاخساره Shoot dry weight	وزن تر ریشه Root fresh weight	وزن خشک ریشه Root dry weight	تعداد برگ Leaf number
گونه Species (S)	1	170.017**	48.600**	1.48**	0.027**	0.080**	0.009**	64.067**
ملاتونین Melatonin (M)	1	277.350**	153.600**	3.060**	0.067**	0.023**	0.004**	4.267**
تنش شوری Salinity stress (SS)	4	224.767**	271.375**	7.332**	0.206**	0.106**	0.018**	13.150**
S×M	4	88.817**	2.400	0.009*	0.018**	0.001	1.667	0.267
S×SS	4	13.600**	9.558*	2.288**	0.057**	0.040**	0.005**	0.733*
M×SS	4	4.683*	10.392*	0.691**	0.012**	0.002	0.0	0.183
S×M×SS	4	0.983	2.680	0.043	0.0	0.001	8.18	0.100
خطا Error	40	1.283	3.600	0.022	0.001	0.001	0.0	0.217
ضریب تغییرات C.V (%)		0.82	1.34	2.30	2.87	3.30	3.84	1.29

** و * به‌ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.

** and *: significant at $p\leq 0.01$ and $p\leq 0.05$, respectively

مقایسه میانگین دادها نشان داد که با افزایش سطح شوری طول شاخساره به طور معنی‌داری (در سطح احتمال ۵ درصد) در هر دو گونه مورد مطالعه کاهش یافته است و کاربرد ملاتونین سبب کاهش اثرات تنش شوری شده است، به‌طوری‌که بیشترین میزان طول شاخساره در گشنیز و شوید در سطح شوری صفر میلی‌مولار و کاربرد ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین (به ترتیب ۲۵ و ۲۹/۳۳ سانتی‌متر) و کمترین میزان طول شاخساره در سطح شوری ۱۰۰ میلی‌مولار و عدم کاربرد ملاتونین (به ترتیب ۷/۶۶ و ۱۳ سانتی‌متر) مشاهده شد (جدول ۲). بیشترین و کمترین طول ریشه گشنیز به ترتیب در غلظت صفر میلی‌مولار کلرید سدیم و ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین (۲۵/۶۶ سانتی‌متر) و ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم و صفر میلی مولار ملاتونین (۱۰ سانتی‌متر) مشاهده شد. همچنین، بیشترین طول ریشه شوید در غلظت صفر میلی‌مولار کلرید سدیم و ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین (۳۱/۳۳ سانتی‌متر) و کمترین طول ریشه در ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم و صفر میلی‌مولار ملاتونین (۱۲/۳۳ سانتی‌متر) مشاهده شد (جدول ۲).

نتایج نشان داد که افزایش سطح شوری باعث کاهش وزن تر و خشک شاخساره و ریشه در هر دو گیاه گشنیز و شوید شده، با این حال میزان این کاهش در گیاه شوید بیشتر از گشنیز می‌باشد (جدول ۲). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که کاربرد ملاتونین اثرات منفی تنش شوری را کاهش داده است، به‌طوری‌که در سطح شوری ۱۶۰ میلی‌مولار کلرید سدیم وزن تر و خشک شاخساره گیاه گشنیز تحت

تیمار ملاتونین به ترتیب ۶ و ۳/۶۱ برابر گیاه گشنیزی می‌باشد که فاقد کاربرد ملاتونین می‌باشد. همچنین، وزن تر و خشک ریشه گیاه گشنیز تحت تیمار ملاتونین در سطح شوری ۱۶۰ میلی‌مولار به ترتیب ۱/۶۹ و ۱/۸۲ برابر گیاه گشنیزی می‌باشد که فاقد کاربرد ملاتونین می‌باشد (جدول ۲).

نتایج میانگین داده‌ها نشان داد که تعداد برگ‌ها در هر دو گیاه گشنیز و شوید با افزایش میزان شوری کاهش معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد دارند. با این حال، میزان این کاهش در نمونه‌هایی که تحت تأثیر ملاتونین قرار گرفته‌اند نسبت به نمونه‌های فاقد ملاتونین کمتر می‌باشد (جدول ۲).

جدول ۲- اثر ملاتونین بر ویژگی‌های مورفولوژیکی گیاه گشنیز و شوید تحت تنش شوری

Table 2- The effect of melatonin on the morphological traits of *Coriandrum sativum* L. and *Anethum graveolens* L. under salt stress

سطح ملاتونین Melatonilevel (µM)	سطوح شوری Salinity levels (mM NaCl)	طول شاخساره Shoot length (cm)	طول ریشه Root length (cm)	وزن تر شاخساره Shoot fresh weight (g)	وزن خشک شاخساره Shoot dry weight (g)	وزن تر ریشه Root fresh weight (g)	وزن تر ریشه Root fresh weight (g)	تعداد برگ Leaf number
				گشنیز				
0	0	16.00±0.57^{cd}	20.33±0.88^{b}	0.66±0.096^{bcd}	0.133±0.014^{bcd}	0.087±0.003^{cd}	0.059±0.009^{ab}	6.33±0.33^{ab}
	40	15.09±0.09^{de}	16.66±0.66^{cd}	0.51±0.005^{cd}	0.082±0.004^{cde}	0.069±0.004^{def}	0.036±0.002^{bcd}	6.00±0.0^{bc}
	80	13.33±0.88^{ef}	15.66±0.33^{de}	0.42±0.023^{de}	0.061±0.001^{de}	0.056±0.002^{f}	0.025±0.001^{cd}	5.33±0.33^{bcd}
	120	11.00±0.57^{f}	14.66±0.33^{de}	0.34±0.008^{de}	0.053±0.006^{de}	0.050±0.007^{fg}	0.020±0.001^{d}	5.00±0.0^{cde}
	160	7.66±0.66^{g}	10.00±0.05^{f}	0.07±0.006^{e}	0.026±0.006^{e}	0.036±0.001^{g}	0.017±0.001^{d}	4.00±0.0^{e}
100	0	25.00±0.57^{a}	25.66±1.66^{a}	1.83±0.176^{a}	0.333±0.039^{a}	0.200±0.008^{a}	0.085±0.013^{a}	7.33±0.33^{a}
	40	21.00±0.57^{b}	20.66±0.66^{b}	0.98±0.059^{b}	0.167±0.006^{b}	0.108±0.001^{b}	0.046±0.001^{bc}	6.33±0.33^{ab}
	80	18.33±0.33^{c}	19.66±0.33^{bc}	0.80±0.055^{bc}	0.137±0.010^{bc}	0.059±0.001^{bc}	0.040±0.001^{bcd}	6.00±0.0^{bc}
	120	17.00±0.08^{cd}	16.33±0.33^{cde}	0.63±0.006^{bcd}	0.112±0.004^{bcd}	0.080±0.002^{cde}	0.038±0.001^{bcd}	5.66±0.33^{bcd}
	160	15.33±0.33^{de}	13.00±0.04^{ef}	0.42±0.078^{de}	0.094±0.004^{cde}	0.061±0.002^{ef}	0.031±0.002^{cd}	4.66±0.33^{de}
				شوید				
0	0	26.00±1.00^{a}	24.00±2.08^{b}	2.40±0.20^{b}	0.437±0.053^{b}	0.390±0.043^{a}	0.145±0.0132^{a}	5.33±0.66^{ab}
	40	19.00±0.0^{bc}	19.33±0.33^{bc}	0.66±0.03^{cd}	0.149±0.036^{c}	0.155±0.031^{bc}	0.062±0.0118^{bc}	4.00±0.0^{bc}
	80	18.00±0.0^{bcd}	17.33±0.663^{bcd}	0.46±0.06^{cd}	0.072±0.010^{cd}	0.080±0.005^{bcd}	0.034±0.0041^{bcd}	3.00±0.0^{cd}
	120	16.00±0.57^{cde}	15.33±0.33^{cd}	0.26±0.01^{d}	0.037±0.003^{cd}	0.054±0.005^{cd}	0.024±0.0008^{cd}	2.66±0.33^{cd}
	160	13.00±0.0^{e}	12.33±0.66^{d}	0.20±0.01^{d}	0.024±0.002^{c}	0.031±0.006^{d}	0.018±0.0051^{d}	2.00±0.0^{d}
100	0	29.33±1.45^{a}	31.33±3.52^{a}	3.83±0.14^{a}	0.579±0.024^{a}	0.436±0.044^{a}	0.184±0.0191^{a}	5.66±0.33^{a}
	40	21.66±0.33^{b}	21.00±0.57^{bc}	0.86±0.13^{c}	0.128±0.003^{cd}	0.191±0.016^{b}	0.074±0.0094^{b}	4.00±0.0^{bc}
	80	19.00±1.00^{bc}	18.66±0.66^{bcd}	0.53±0.05^{cd}	0.101±0.013^{cd}	0.117±0.015^{bcd}	0.056±0.00^{bcd}	3.33±0.33^{cd}
	120	16.66±0.66^{cde}	16.33±0.33^{cd}	0.35±0.02^{cd}	0.044±0.001^{cd}	0.068±0.001^{cd}	0.033±0.0066^{bcd}	3.00±0.0^{cd}
	160	14.66±0.88^{de}	15.00±0.57^{cd}	0.25±0.02^{d}	0.028±0.002^{d}	0.048±0.007^{cd}	0.017±0.0045^{cd}	3.00±0.0^{cd}

داده‌های دارای حروف مشترک در هر ستون، فاقد اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند.

Means with similar letters in each column are not significantly different based on the Tukey test ($p\leq0.05$).

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که ملاتونین و تنش شوری دارای تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد بر روی همه رنگیزه‌ها دارند. تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات متقابل گونه با ملاتونین دارای تأثیر معنی‌داری بر همه رنگیزه‌ها بجز کاروتنوئیدها دارد و همچنین اثرات متقابل گونه با شوری، ملاتونین با شوری و اثر متقابل هر سه عامل دارای تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد بر همه رنگیزه‌ها می‌باشند (جدول ۳).

مقایسه میانگین‌ها داده‌ها نشان داد که با افزایش سطح تنش شوری کاهش معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد در میزان رنگیزه های کلروفیلی و آنتوسیانین دو گیاه گشنیز و شوید مشاهده شده است. با این حال، کاربرد ملاتونین سبب کاهش اثرات منفی تنش شوری در دو گیاه شده است (جدول ۴).

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که گونه و ملاتونین دارای تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد بر همه پارامترهای فیزیولوژیک می‌باشند، همچنین تنش شوری دارای تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد بر روی همه پارامترهای فیزیولوژیک به غیر از محتوی نسبی آب می‌باشد. همچنین، اثرات متقابل گونه با شوری، گونه با ملاتونین، ملاتونین با شوری و اثر متقابل هر سه عامل دارای تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد بر پارامترهای میزان پرولین و فنل کل دارند (جدول ۵).

جدول ۳- تجزیه واریانس کاربرد ملاتونین بر محتوی رنگیزه‌های فتوسنتزی برگ گشنیز و شوید تحت تنش شوری

Table 3- ANOVA for the effect of melatonin application on the leaf photosynthetic pigment content of *Coriandrum sativum* L. and *Anethum graveolens* L. under salinity stress

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean squares				
		کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll a	کلروفیل کل Total Chlorophyll	کاروتنوئیدها Carotenoid	آنتوسیانین Anthocyanin
گونه Species (S)	1	129.125**	1.006	152.925**	3.198**	0.000017**
ملاتونین Melatonin (M)	1	32.198**	3.561*	58.505**	1.769*	0.000027**
تنش شوری Salinity stress (SS)	4	76.738**	5.029**	120.733**	4.646**	0.000021**
S×M	4	22.915*	5.351*	50.412*	0.942	0.000030**
S×SS	4	37.646**	4.298**	66.709**	1.704**	0.000020**
M×SS	4	28.951**	2.448**	47.875**	1.015*	0.000004**
S×M×SS	40	36.568**	2.925**	60.101**	1.439**	0.000005**
خطا Error		3.986	0.567	7.330	0.286	0.000003**
ضریب تغییرات C.V (%)		3.55	3.33	3.44	3.17	0.001

** و * به‌ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.

** and *: significant at $p\leq0.01$ and $p\leq0.05$, respectively

جدول ٤- اثر ملاتونین بر محتوی رنگیزه‌های فتوسنتزی برگ گشنیز و شوید تحت تنش شوری

Table 4- The effect of melatonin application on the leaf photosynthetic pigment content of *Coriandrum sativum* L. and *Anethum graveolens* L. under salt stress

سطح ملاتونین Melatonin level (µM)	سطوح شوری Salinity levels (mM NaCl)	کلروفیل a Chlorophyll a (mg.g-1 F.W)	کلروفیل b Chlorophyll a (mg.g-1 F.W)	کلروفیل کل Total Chlorophyll (mg.g-1 F.W)	کاروتنوئیدها Carotenoid (mg.g-1 F.W)	آنتوسیانین Anthocyanin (mg.g-1 F.W)
				Coriandrum sativum L. گشنیز		
	0	8.30±1.35ab	3.47±0.45ab	11.77±1.80ab	2.72±0.38a	0.0103±0.0010a
	40	4.12±0.21abcd	2.24±0.32ab	6.36±0.39abc	1.70±0.13ab	0.0058±0.0006abc
0	80	6.83±1.24abcd	3.21±0.45ab	10.05±1.70abc	2.58±0.41ab	0.0090±0.0008abc
	120	5.95±0.42abcd	3.00±0.21ab	8.96±0.64abc	1.78±0.11ab	0.0075±0.0015abc
	160	3.10±0.47d	2.23±0.17ab	5.33±0.61c	0.67±0.04c	0.0051±0.0015bc
	0	7.81±0.64abc	3.14±0.26ab	10.96±0.90abc	2.52±0.18ab	0.0088±0.0010abc
	40	3.93±0.77bcd	1.76±0.22b	5.69±1.01bc	1.59±0.26ab	0.0056±0.0001abc
100	80	5.72±1.30abcd	2.86±0.62ab	8.59±1.92abc	2.11±0.37ab	0.0085±0.0012abc
	120	8.50±1.20a	3.86±0.45a	12.37±1.66a	2.45±0.36ab	0.0098±0.0006ab
	160	3.61±0.03cd	1.97±0.06b	5.58±0.09bc	1.26±0.08bc	0.0045±0.0003c
				Anethum graveolens L.شوید		
	0	8.10±0.85b	2.53±0.14b	10.64±0.79b	2.29±0.23b	0.0055±0.0006ab
	40	9.80±0.34b	3.45±0.12b	13.35±0.64b	2.88±0.13b	0.0072±0.0004ab
0	80	7.30±1.65b	2.45±0.61b	9.75±2.27b	2.10±0.45b	0.0042±0.0010b
	120	5.16±0.79b	1.77±0.33b	6.94±1.11b	1.49±0.28b	0.0027±0.0005b
	160	6.43±1.98d	2.15±0.62b	8.58±2.60b	1.74±0.57b	0.0057±0.0017ab
	0	22.36±2.53a	6.78±0.91a	29.05±3.45a	4.93±0.41a	0.0110±0.0006b
	40	8.17±1.29b	3.19±0.55b	11.37±1.80b	2.52±0.30b	0.0082±0.0017ab
100	80	7.65±0.83b	3.08±0.16b	10.73±0.94b	2.30±0.27b	0.0079±0.0018ab
	120	5.12±0.93b	2.14±0.51b	7.27±1.41b	1.63±0.27b	0.0061±0.0019ab
	160	7.21±0.85b	2.67±0.30b	9.89±1.16b	1.20±0.23b	0.0059±0.0008ab

داده‌های دارای حروف مشترک در هر ستون، فاقد اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند.

Means with similar letters in each column are not significantly different based on the Tukey test ($p\leq0.05$).

جدول ۵- تجزیه واریانس کاربرد ملاتونین بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی گیاه گشنیز و شوید تحت تنش شوری

Table 5- ANOVA for the effect melatonin application on the Physiological traits of *Coriandrum sativum* L. and *Anethum graveolens* L. under salinity stress

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean squares محتوی نسبی آب Water relative content	 نشت یونی Ion leakage	 پرولین Proline	 پروتئین کل Total Protein	 فنل کل Total phenolic
گونه Species (S)	1	538.756*	13183.41**	2817.105**	25.585**	1316.385**
ملاتونین Melatonin (M)	1	209.686*	484.820**	1762.105**	213.868**	117.071**
تنش شوری Salinity stress SS)	4	2683.417	7054.123**	5833.299**	174.706**	101.745**
S×M	4	0.014	23.207	6355.484**	1.778	14.306**
S×SS	4	57.264	945.918**	4309.023**	15.603**	75.759**
M×SS	4	7.888	40.416	1316.389**	6.047	3.808**
S×M×SS	40	34.278	35.279	1033.496**	0.468	3.342**
خطا Error		48.022	21.250	107.560	3.17	1.278
ضریب تغییرات C.V (%)		1.16	1.23	3.64	0.79	1.02

** و * به‌ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.

** and *: significant at $p\leq 0.01$ and $p\leq 0.05$, respectively

نتایج میانگین داده‌ها نشان داد که در هر دو گیاه گشنیز و شوید محتوی نسبی آب با افزایش سطح شوری کاهش معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد داشته، ولی میزان این کاهش در نمونه‌هایی که تحت تیمار ملاتونین قرار گرفته بودند کمتر می‌باشد. برعکس، با افزایش سطح شوری درصد نشت یونی افزایش معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد داشته است، که میزان این کاهش در نمونه‌های تحت تیمار ملاتونین نسبت به نمونه‌های دیگر کمتر می‌باشد (جدول ۶).

نتایج نشان داد که با افزایش سطح شوری میزان پرولین افزایش یافته است، به‌طوری‌که میزان این افزایش در گیاه گشنیز خیلی بیشتر از شوید می‌باشد. با این حال، نتایج میانگین داده‌ها نشان داد که با افزایش سطح شوری میزان فنل کل افزایش یافته است، به‌طوریکه میزان این افزایش در گیاه شوید بیشتر از گشنیز می‌باشد (جدول ۶).

با افزایش سطح شوری میزان پروتئین کل در هر دو گیاه گشنیز و شوید کاهش یافته است، ولی میزان این کاهش در نمونه‌هایی که تحت تیمار ملاتونین قرار گرفته بودند کمتر می‌باشد. در گیاه گشنیز میزان کاهش پروتئین کل در سطح شوری ۱۶۰ میلی‌مولار نسبت به شاهد ۴۲/۳۱ درصد می‌باشد ولی این کاهش در نمونه‌هایی که تحت تیمار ملاتونین قرار گرفتند ۲۸/۹ درصد بود. همچنین، در گیاه شوید میزان کاهش پروتئین کل در سطح شوری ۱۶۰ میلی‌مولار نسبت به شاهد در نمونه‌های فاقد تیمار ملاتونین و تحت تیمار ملاتونین به ترتیب ۲۹/۷۸ و ۲۱/۰۶ درصد بود (جدول ۶).

تنش شوری باعث کاهش رشد و تغییرات در متابولیسم گیاهان می‌شود. یکی از محرک‌ها و ترکیب‌های زیستی شناخته شده در برابر تنش‌ها و همچنین بهبود دهنده رشد گیاهان در شرایط نرمال، ملاتونین می‌باشد (Li *et al*., 2015; Janas and Posmyk, 2013; Zhang *et al*., 2015). محلول‌پاشی ملاتونین موجب افزایش تحمل گیاهان به شرایط تنش می‌شود (Tan *et al*., 2011). در این تحقیق نیز نشان داده شد که فیتوهورمون ملاتونین می‌تواند موجب بهبود ویژگی‌های مرفولوژیکی و فیزیولوژکی گیاه در شرایط تنش و عدم تنش شود. نتایج تحقیقات دیگر نیز نشان می‌دهند که استفاده از ملاتونین سبب مقاومت به تنش شوری در هندوانه، سیب و خیار شده است (Gao *et al*., 2019). در گیاه کلم نیز نشان داده شده است که استفاده از ملاتونین موجب افزایش رشد گیاه می‌شود (Zhang *et al*., 2014).

جدول ٦- اثر ملاتونین بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی گیاه گشنیز و شوید تحت تنش شوری

Table 6- the effect of melatonin application on the physiological traits of *Coriandrum sativum* L. and *Anethum graveolens* L. under salt stress

سطوح ملاتونین **Melatonin levels (μM)**	سطوح شوری **Salinity levels (mM NaCl)**	محتوی نسبی آب برگ **Leaf water relative content (%)**	نشت یونی **Ion leakage (%)**	پرولین **Proline ($μg.g^{-1}$ F.W)**	پروتئین کل **Total protein ($mg.g^{-1}$ F.W)**	فنل کل) **Total phenol ($mg.100\ g^{-1}$ F.W)**
			گشنیز			
0	0	93.30±0.87^{ab}	20.27±0.95^{g}	3.66±0.09^{d}	33.06±0.53^{ab}	8.49±0.027^{c}
	40	88.19±1.04^{ab}	53.70±5.64^{e}	30.73±6.06^{cd}	30.82±0.23^{abc}	8.57±0.006^{c}
	80	83.26±0.88^{ab}	76.29±1.12^{cd}	44.21±3.21^{bc}	29.01±0.53^{abc}	8.66±0.013^{c}
	120	77.03±2.24^{b}	86.67±0.94^{abc}	64.86±5.32^{b}	27.48±0.30^{bc}	8.77±0.044^{c}
	160	48.07±2.82^{c}	95.13±1.75^{a}	153.25±11.89^{a}	19.07±4.82^{d}	9.03±0.096^{c}
100	0	96.73±1.64^{a}	18.00±1.75^{g}	8.02±1.04^{d}	35.24±0.47^{a}	9.50±0.032^{bc}
	40	91.80±0.93^{ab}	35.08±1.68^{f}	28.40±4.19^{cd}	32.84±0.41^{ab}	10.49±0.005^{ab}
	80	83.89±0.61^{ab}	72.67±2.91^{d}	13.56±2.12^{cd}	32.62±0.53^{ab}	10.55±0.023^{a}
	120	81.16±0.96^{ab}	81.92±2.05^{bcd}	18.33±2.99^{cd}	30.87±0.09^{abc}	10.66±0.013^{a}
	160	55.12±2.35^{c}	89.75±1.16^{ab}	71.29±4.12^{b}	25.03±2.80^{cd}	11.42±0.644^{a}
			شوید *Anethum graveolens* L.			
0	0	80.87±0.85^{a}	17.37±2.53^{d}	18.71±7.79^{b}	30.82±0.27^{b}	10.98±0.51^{d}
	40	78.21±0.18^{a}	22.52±0.79^{d}	31.98±11.65^{ab}	29.29±1.01^{bc}	13.61±0.01^{cd}
	80	75.47±0.84^{ab}	25.82±1.10^{cd}	17.17±2.31^{b}	25.24±0.10^{de}	15.93±0.03^{c}
	120	71.02±0.36^{abc}	43.17±2.52^{b}	21.12±4.22^{b}	24.21±0.46^{ef}	21.39±0.05^{b}
	160	54.47±1.20^{bc}	68.73±5.54^{a}	36.29±5.25^{ab}	21.64±0.54^{f}	23.57±0.93^{ab}
100	0	86.99±0.94^{a}	13.04±1.39^{d}	53.04±5.09^{a}	34.75±0.32^{a}	13.75±0.02^{cd}
	40	84.19±0.57^{a}	18.00±1.59^{d}	16.97±4.03^{b}	31.31±1.18^{b}	15.77±0.05^{c}
	80	81.25±0.33^{a}	23.94±1.58^{d}	24.91±4.08^{b}	29.62±0.19^{bc}	23.42±1.01^{ab}
	120	76.51±1.42^{a}	40.21±4.09^{bc}	40.16±2.60^{ab}	28.69±0.35^{bc}	24.48±0.0^{ab}
	160	49.63±2.32^{c}	60.22±3.87^{a}	38.91±1.14^{ab}	27.43±0.90^{d}	26.91±2.43^{a}

داده‌های دارای حروف مشترک در هر ستون، فاقد اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند.

Means with similar letters in each column are not significantly different based on the Tukey test ($p≤0.05$).

طبق نتایج حاصل از داده‌های این تحقیق تنش شوری موجب کاهش طول شاخساره و ریشه در دو گونه گشنیز و شوید، شد. کاهش طول گیاهان تحت تنش شوری، می‌تواند به علت کاهش پتانسیل آب موجود در خاک یا اثر اسمزی ناشی از حضور نمک، در خاک باشد، که موجب کاهش جذب آب توسط گیاه می‌شود و در نتیجه منجر به کاهش تقسیم و طویل شدن سلول‌ها می‌گردد (Akbari Quzhi *et al*., 2010). در تحقیقات دیگری نیز، افزایش میزان شوری موجب کاهش ارتفاع در فلفل و شوید شده است (Najafi and Sarhangzadeh, 2012). نتایج همچنین نشان داد، استفاده از ملاتونین موجب افزایش ارتفاع شاخساره و ریشه در شرایط تنش و عدم تنش در هر دو گونه گشنیز و شوید می‌شود. ملاتونین از لحاظ ساختاری شبیه اکسین می‌باشد و به دلیل اثرات شبه اکسینی خود، موجب تحریک رشد رویشی، ریشه‌دهی و طویل شدن کلئوپتیل می‌شود (Arnao and Hernandez-Ruiz, 2014). احتمالاً ملاتونین به ایندول استیک اسید متابولیزه شده و یا مقدار اکسین درون‌زای گیاه را افزایش می‌دهد و از این طریق باعث افزایش رشد اندام هوایی گیاه می‌شود (Arnao and Hernández-Ruiz, 2017).

در تحقیقاتی که بر روی گیاهان توت‌فرنگی و لوبیا تحت تنش شوری انجام شده است، مشاهده شده که تنش شوری موجب کاهش تعداد برگ در این گیاهان می‌شود (Najafi Marghmaleki *et al*., 2016)، که با نتایج حاصل از این تحقیق بر روی دو گونه گشنیز و شوید همخوانی دارد. در مقابل استفاده از ملاتونین موجب افزایش تعداد برگ در دو گونه گشنیز و شوید شد، که با نتایج حاصل از تاثیر ملاتونین بر روی گیاه باقلا تحت تنش شوری و گیاه جو همسو است (Zhang *et al*., 2013;El-Ghany and Attia, 2020). این افزایش در تعداد برگ با استفاده از ملاتونین را می‌توان به نقش ثابت شده ملاتونین در افزایش تقسیم سلولی نسبت داد که موجب افزایش تعداد برگ‌ها شده است (Murch and Saxena, 2002).

گزارش شده است که تنش شوری سبب کاهش وزن تر و خشک در شوید می‌شود (Najafi and Sarhangzadeh, 2012)، که

مشاهدات حاصل از نتایج این تحقیق نیز مؤید همین موضوع است. به هم خوردن تنظیم اسمزی، کاهش آب قابل دسترس، عدم تعادل عناصر غذایی، سمیّت یون‌های کلر و سدیم سبب کاهش وزن خشک گیاهان می‌شوند (Munns, 2005). در پژوهشی بر روی گیاه باقلا و گیاه جو دوسر تحت تنش شوری، کاربرد ملاتونین موجب افزایش وزن تر و خشک شد که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد (El-Gao et al., 2019;Ghany and Attia, 2020). استفاده از ملاتونین در گیاهان مختلف نیز موجب افزایش وزن خشک شد (Wang et al., 2007;Oloumi et al., 2018). استفاده از ملاتونین ممکن است از طریق افزایش غلظت یون منیزیم، کاروتنوئیدها، آنتوسیانین و فلاونوئید باعث حفظ کلروفیل و متعاقباً افزایش وزن خشک گیاه شود (Farouk and Al-Amri, 2019).

کلروفیل در شرایط تنش شوری می‌تواند ناشی از افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز، تغییر ساختار، عملکرد و کاهش محتوای پروتئین‌ها به‌ویژه پروتئین‌های غشای گیاهان و آنزیم‌های مسیر بیوسنتز کلروفیل مانند، ۵-آمینو لوولونیک اسید دهیدراتاز، پورفوبیلینوژن دآمیناز، پروتوکلروفیلید اکسیدوردوکتاز باشد (Turan and Tripathy, 2014). همچنین تنش شوری باعث می‌شود که گلوتامین که پیش ماده مشترک ساخت کلروفیل و پرولین است، کمتر در مسیر بیوسنتز کلروفیل شرکت داشته باشد و بیشتر در سنتز پرولین مصرف شود و به همین دلیل مقدار کلروفیل کل کاهش می‌یابد (Bybordi, 2012). این تحقیق همچنین نشان داد که افزایش سطوح شوری موجب کاهش کاروتنوئید در دو گونه گشنیز و شوید می‌شود. کاهش کاروتنوئیدها در شرایط شور و شرایطی که در آن گیاه با کمبود آب مواجه است، می‌تواند ناشی از اکسید شدن توسط ترکیبات ROS و تخریب کاروتنوئیدها یا تبدیل بتاکاروتن به ویوالزآنتین و سپس تشکیل زآزانتین در چرخه گزانتوفیل باشد (Bruce et al., 2002).

تیمار ملاتونین نقش مهمی در حفاظت از کلروفیل و افزایش فتوسنتز به‌دلیل بالا بردن فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و در نتیجه مهار تولید گونه‌های فعال اکسیژن ایفا می‌کند (Xu et al., 2010). تیمار ملاتونین از فعالیت آنزیم کلروفیلاز و آنزیم فئوفوربید-آ-اکسیژناز، آنزیم‌های تجزیه کننده کلروفیل جلوگیری به عمل می‌آورد (Turk et al., 2014;Wang et al., 2014). یکی از مهمترین نقش های ملاتونین در گیاهان این است که به‌عنوان اولین خط دفاعی گیاه در برابر شرایط نامساعد محیطی و داخلی به‌عنوان یک آنتی اکسیدان و محافظت کننده قوی ایفای نقش می کند و از این طریق سبب حفظ کاروتنوئیدها در برابر انواع تنش‌ها، به‌ویژه تنش‌های اکسیداتیو، می‌شود. همچنین ملاتونین تا حد زیادی بیوسنتز کاروتنوئید را برای کاهش آسیب اکسیداتیو نوری القا می‌کند (Liang et al., 2019). بنابراین ملاتونین می‌تواند موجب افزایش میزان کارتنوئید در گیاهان شود، که نتایج حاصل از این تحقیق نیز مؤید آن می‌باشد و از این طریق نیز می‌تواند بر بهبود ساختار و افزایش غلظت کلروفیل مؤثر باشد (Farouk and Al-Amri, 2019). ملاتونین موجب افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی در ذرت و باقلا تحت تنش شوری نیز شده است (Jiang et al., 2016).

در این تحقیق افزایش سطح شوری موجب کاهش محتوای نسبی آب برگ در دو گونه گشنیز و شوید شد. در واقع کاهش محتوای نسبی آب برگ، پاسخ عمومی گیاهان در معرض تنش اسمزی و ویژگی بسیار مناسبی از وضعیت آب در گیاه است (Aftab et al., 2011). کاهش در محتوای نسبی آب برگ می‌تواند به علت کاهش دسترسی به آب در شرایط تنش باشد، یا اینکه سیستم‌های ریشه‌ای به‌دلیل کاهش سطح جذب و کاهش جذب آب از ریشه‌ها قادر به جبران آب از دست‌رفته توسط تعرق نباشند (Colom and Vazzana, 2003). کاربرد ملاتونین در گیاه بادرشبویه تحت تنش خشکی موجب افزایش محتوی نسبی آب شد (Kabiri et al., 2018). استفاده از پیش‌تیمار ملاتونین در نشاء خربزه خاتونی به‌طور معنی‌داری باعث افزایش درصد رطوبت نسبی نسبت به شاهد گردید (Nastari Nasrabadi and Saberali, 2020). ملاتونین با کاهش پراکسیداسیون لیپیدها، انواع اکسیژن فعال و حفظ پایداری غشا می‌تواند موجب بهبود محتوی نسبی آب شود (Farouk and Al-Amri, 2019). در این تحقیق نیز استفاده از ملاتونین موجب بهبود محتوی نسبی آب در دو گونه گشنیز و شوید شد.

نتایج نشان می‌دهد که متناسب با افزایش تش شوری میزان نشت یونی، در دو گونه گشنیز و شوید افزایش پیدا می‌کند. در واقع تنش‌های محیطی از طریق ایجاد رادیکال‌های آزاد اکسیژن در داخل سلول، موجب کاهش پایداری غشا و افزایش نشت مواد سیتوپلاسمی شده است و در نتیجه افزایش نسبت نشت الکترولیت را به دنبال دارد (Azari et al., 2012). تنش شوری سبب افزایش نشت یونی در دو گیاه همیشه بهار و اسفناج نیز شد (Kaya et al., 2001). نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که ملاتونین موجب کاهش نشت یونی در مقابل افزایش میزان شوری می‌شود. ملاتونین نفوذپذیری غشاهای پلاسما و پراکسیداسیون لیپید در غشاها را کاهش می‌دهد و باعث حفظ یکپارچگی و عملکرد غشا در گیاه در تنش شوری می‌شود، به این ترتیب سمیت مواد معدنی را کاهش داده و رشد گیاه را بهبود می‌بخشد (Wang et al., 2016). در هندوانه نیز، پیش تیمار برگی ملاتونین باعث کاهش نشت الکترولیت تحت تنش شوری شد (Dongxiao et al., 2017). همچنین کاربرد ملاتونین میزان نشت یونی را در گیاه خربزه خاتونی بطور معنی‌داری کاهش داد (Nastari Nasrabadi and Saberali, 2020).

افزایش غلظت پرولین در شرایط تنش، ممکن است به علت فعال‌سازی آنزیم‌های بیوسنتزی پرولین، کاهش تخریب آن در اثر اکسیداسیون و تبدیل آن به گلوتامات و کاهش استفاده از پرولین در

سنتز پروتئین‌ها و یا تبدیل پروتئین به پرولین باشد (Ashraf and McNeilly, 2004). محققان زیادی افزایش میزان پرولین در گیاهان را بر اثر استفاده از ملاتونین گزارش کرده‌اند که با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت دارند (Campos et al., Zhang et al., 2017; Turk et al., 2014; 2019). این افزایش در میزان پرولین می‌تواند به علت نقش ملاتونین درحفظ آب سلول و محافظت از غشا و پروتئین از بین رونده ROS و عملکرد ملاتونین به‌عنوان یک آنتی اکسیدان در جلوگیری از تخریب پرولین مربوط شود (Turk et al., 2014).

پروتئین‌های محلول برگ تحت تنش شوری در نتیجه واکنش با رادیکال‌های آزاد، تغییر اسیدهای آمینه، افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه کننده پروتئین‌ها، کاهش سنتز پروتئین‌ها، تخریب مکانیسم های رونویسی و ترجمه mRNA کاهش می‌یابند (Ranjan et al., 2001). میزان پروتئین کل در گوجه‌فرنگی تحت تنش شوری کاهش یافت که مطابق با نتایج حاصل از این تحقیق بود (Debouba et al., 2016). در تحقیقی پیش‌تیمار گیاهچه‌های جعفری آفریقایی با ملاتونین موجب افزایش محتوای پروتئین در شرایط تنش شوری شد (Zare zeinali et al., 2020). تأثیر ملاتونین به‌عنوان یک آنتی-اکسیدانت در مقابل تنش‌های مختلف، با از بین بردن گونه‌های اکسیژن فعال، از اکسیداسیون پروتئین‌ها جلوگیری کرده و موجب حفظ ساختار و عملکرد پروتئین‌ها می‌شود (Arnao and Hernandez-ruiz, 2014; Jiang et al., 2016; Zhang et al., 2015). در این تحقیق نیز نتایج نشان می‌دهد که استفاده از ملاتونین موجب حفظ بیشتر پروتئین در گیاهان تحت تنش شده است.

در پژوهشی بر روی گیاه مریم‌گلی مشخص شد، که تنش شوری موجب افزایش محتوای فنل کل در این گیاه می‌شود (Grzeszczuk et al., 2018). نتایج حاصل از این تحقیق نیز نشان می‌دهد که تنش شوری موجب افزایش محتوی فنل کل در دو گونه گشنیز و شوید، شده است. تجمع ترکیبات فنلی در گیاهان متحمل به شوری راهکاری برای مهار فعالیت رادیکال‌های اکسیژن فعال و محافظت غشای سلول از صدمات تنش شوری محسوب می‌شود (Singh, 2004). کاربرد ملاتونین باعث افزایش معنادار ترکیبات فنلی تحت شرایط تنش در نشاء خربزه خاتونی شد (Nastari Nasrabadi and Saberali, 2020). کاربرد ملاتونین به‌عنوان تعدیل کننده اثرات تنش‌های محیطی، با افزایش میزان فنل در گیاهان تحت تنش، باعث حفظ آب درون سلول‌ها و حفظ ساختار سلولی آن‌ها می‌شود (Zhang et al., 2017). تیمار ملاتونین با تنظیم بیان ژن‌های مسیر فنیل پروپانوئید مانند paL باعث افزایش ترکیبات فنلی می‌شود (Zhang et al., 2015). در این تحقیق نیز گیاهان تحت تیمار ملاتونین محتوی فنل بیشتری نسبت به گیاهان شاهد داشتند.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد، که شوری بر روی اغلب صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی دو گونه گشنیز و شوید تأثیر منفی می‌گذارد، ولی در مقابل استفاده از فیتوهورمون ملاتونین سبب بهبود این صفات در شرایط تنش و عدم تنش شده است. بنابراین استفاده از ملاتونین در گیاهان تحت تنش شوری می‌تواند تا حد زیادی اثرات منفی شوری بر روی این دو گونه گیاهی را تقلیل دهد.

منابع

1. Aftab, T., Khan, M.M.A., da Silva, J.A.T., Idrees, M., Naeem, M., & Moinuddin. (2011). Role of salicylic acid in promoting salt stress tolerance and enhanced artemisinin production in *Artemisia annua* L. *Journal of Plant Growth Regulation*, *30*, 425-435. https://doi.org/10.1007/s00344-011-9205-0
2. Akbari Quzhi, E., Izadi Darbandi, A., Borzoi, A., & Majd Abadi, A. (2010). An investigation on morphologic changes in Wheat (*Triticum aestivum* L.) genotype on salinity condition. *Journal Science Technology Greenhouse Culture*, *4*, 71-82.
3. Arnao, M.B., & Hernández-Ruiz, J. (2014). Melatonin: plant growth regulator and/or biostimulator during stress? *Trends in Plant Science*, *19*(12), 789-797. https://doi.org/10.1016/j.tplants.2014.07.006
4. Arnao, M.B., & Hernández-Ruiz, J. (2017). Growth activity, rooting capacity, and tropism: three auxinic precepts fulfilled by melatonin. *Acta Physiologiae Plantarum*, *39*, 1-9. https://doi.org/10.1080/07352680490433286.
5. Ashraf, M., & Harris, P.J.C. (2005). *Abiotic stresses: plant resistance through breeding and molecular approaches*. Haworth Press. New York.
6. Azari, A., Sanavi, S.M., Askari, H., Ghanati, F., Naji, A.M., & Alizadeh, B. (2012). Effect of salt stress on morphological and physiological traits of two species of rapeseed (*Brassica napus* and B. *rapa*). *Iranian Journal of Crop Sciences*, *14*(2), 121-135. (In Persian with English abstract)
7. Bates, L.S., Waldren, R.A., & Teare, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, *39*, 205-207. https://doi.org/10.1007/BF00018060
8. 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*(1-2), 248-254. https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999

9. Bruce, W.B., Edmeades, G.O., & Barker, T.C. (2002). Molecular and physiological approaches to maize improvement for drought tolerance. *Journal of Experimental Botany*, *53*(366), 13-25. https://doi.org/10.1093/jexbot/53.366.13
10. Bybordi, A. (2012). Study effect of salinity on some physiologic and morphologic properties of two grape cultivars. *Life Science Journal*, *9*(4), 1092-1101.
11. Campos, C.N., Ávila, R.G., de Souza, K.R.D., Azevedo, L.M., & Alves, J.D. (2019). Melatonin reduces oxidative stress and promotes drought tolerance in young *Coffea arabica* L. plants. *Agricultural Water Management*, *211*, 37-47. https://doi.org/10.1016/j.agwat.2018.09.025
12. Chartzoulakis, K., & Klapaki, G. (2000). Response of two greenhouse pepper hybrids to NaCl salinity during different growth stages. *Scientia Horticulturae*, *86*(3), 247-260. https://doi.org/10.1016/S0304-4238(00)00151-5
13. Colom, M.R., & Vazzana, C. (2003). Photosynthesis and PSII functionality of drought-resistant and drought-sensitive weeping lovegrass plants. *Environmental and Experimental Botany*, *49*(2), 135-144. https://doi.org/10.1016/S0098-8472(02)00065-5.
14. Debouba, M., Gouia, H., Valadier, M.H., Ghorbel, M.H., & Suzuki, A. (2006). Salinity-induced tissue-specific diurnal changes in nitrogen assimilatory enzymes in tomato seedlings grown under high or low nitrate medium. *Plant Physiology and Biochemistry*, *44*(5-6), 409-419. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2006.06.017
15. Dongxiao, L.I., Zhang, D., Hongguang, W.A.N.G., Yanming, L.I., & Ruiqi, L.I. (2017). Physiological response of plants to polyethylene glycol (PEG-6000) by exogenous melatonin application in wheat. *Zemdirbyste-Agriculture*, *104*(3). https://doi.org/10.13080/z-a.2017.104.028
16. Abd El-Ghany, M.F., & Attia, M. (2020). Effect of exopolysaccharide-producing bacteria and melatonin on faba bean production in saline and non-saline soil. *Agronomy*, *10*(3), 316. https://doi.org/10.3390/agronomy10030316
17. Esandari, M., Saadati, S., Panahi, Sh., Akhbarfar, Gh., & Ghobadi, A. (2017). Effect of methyl jasmonate on some biochemical and physiological parameters of *Coriandrum sativum* L. under salinity stress. *Journal of Plant Process and Function*, *8*(30), 243-256. (In Persian with English abstract)
18. Farouk, S., & Al-Amri, S.M. (2019). Ameliorative roles of melatonin and/or zeolite on chromium-induced leaf senescence in marjoram plants by activating antioxidant defense, osmolyte accumulation, and ultrastructural modification. *Industrial Crops and Products*, *142*, 111823. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111823
19. Gao, W., Feng, Z., Bai, Q., He, J., & Wang, Y. (2019). Melatonin-mediated regulation of growth and antioxidant capacity in salt-tolerant naked oat under salt stress. *International Journal of Molecular Sciences*, *20*(5), 1176. https://doi.org/10.3390/ijms20051176
20. Grzeszczuk, M., Salachna, P., & Meller, E. (2018). Changes in photosynthetic pigments, total phenolic content, and antioxidant activity of *Salvia coccinea* Buc'hoz Ex Etl. induced by exogenous salicylic acid and soil salinity. *Molecules*, *23*(6), 1296. https://doi.org/10.3390/molecules23061296
21. Janas, K.M., & Posmyk, M.M. (2013). Melatonin, an underestimated natural substance with great potential for agricultural application. *Acta Physiologiae Plantarum*, *35*, 3285-3292. https://doi.org/10.1007/s11738-013-1372-0
22. Jiang, Ch., Cui, Q., Feng, K., Xu, D., Li, Ch., & Zheng, Q. (2016). Melatonin improves antioxidant capacity and ion homeostasis and enhances salt tolerance in maize seedlings. *Acta Physiologiae Plantarum* *38*(4), 82. https://doi.org/10.1007/s11738-016-2101-2
23. Kabiri, R., Hatami, A., Oloomi, H., Naghizadeh, M., Nasibi, F., & Tahmasebi, Z. (2018). Study the effect of melatonin on early growth and some physiological and germination characteristics of seed and Moldavian balm (*Dracocephalum moldavica*) seedling under osmotic stress. *Iranian Journal of Seed Science and Technology*, *7*(1). (In Persian with English abstract)
24. Kaya, C., Higgs, D., & Kirnak, H. (2001). The effects of high salinity (NaCl) and supplementary phosphorus and potassium on physiology and nutrition development of spinach. *Bulg. Journal Plant Physiology*, *27*(3-4), 47-59.
25. Levitt, J. (1980). *Responses of plants to environmental stresses*. Academic Press, New York.
26. Li, C., Tan, D.X., Liang, D., Chang, C., Jia, D., & Ma, F. (2015). Melatonin mediates the regulation of ABA metabolism, free-radical scavenging, and stomatal behaviour in two Malus species under drought stress. *Journal of Experimental Botany*, *66*(3), 669-680. https://doi.org/10.1093/jxb/eru476
27. Li, X., Yu, B., Cui, Y., & Yin, Y. (2017). Melatonin application confers enhanced salt tolerance by regulating Na+ and Cl− accumulation in rice. *Plant Growth Regulation*, *83*, 441-454. https://doi.org/10.1007/s10725-017-0310-3
28. Liang, D., Ni, Z., Xia, H., Xie, Y., Lv, X., Wang, J., & Luo, X. (2019). Exogenous melatonin promotes biomass accumulation and photosynthesis of kiwifruit seedlings under drought stress. *Scientia Horticulturae*, *246*, 34-43. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.10.058
29. Linchenthaler, H.R., & Wellburn, A.R. (1983). Determination of total carotenoides and clorophyll a and b of leaf extracts in diferent solventes. *Biochemical Society Transactions*, *11*, 1591-1592. https://doi.org/10.1042/bst0110591
30. Lutts, S., Kinet, J.M., & Bouharmont, J. (1996). NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Annals of Botany*, *78*(3), 389-398. https://doi.org/10.1006/anbo.1996.0134
31. Mahran, G.H., Kadry, H.A., Thabet, C.K., El-Olemy, M.M., Al-Azizi, M.M., Schiff, P.L., & Liv, N. (1992).

GC/MS analysis of volatile oil of fruits of *Anethum graveolens*. *International Journal of Pharmacognosy*, *30*(2), 139-144. https://doi.org/10.3109/13880209209053978
32. Munns, R. (2005). Genes and salt tolerance: bringing them together. *New Phytologist*, *167*(3), 645-663. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2005.01487.x
33. Murch, S.J., & Saxena, P.K. (2002). Mammalian neurohormones: potential significance in reproductive physiology of St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.)? *Naturwissenschaften*, *89*(12), 555-560. https://doi.org/10.1007/s00114-002-0376-1
34. Najafi Marghmaleki, S., Mortazavi, S.M.H., & Moallemi, N. (2016). The effects of salinity on vegetative growth physiology yield properties and fruit quality of strawberry cv. Camarosa. *Plant Production Technology*, *8*, 147-161. (In Persian with English abstract)
35. Najafi, N., & Sarhangzadeh, E. (2012). Effect of NaCl salinity and soil waterlogging on growth characteristics of forage corn in greenhouse conditions. *Journal of Soil and Plant Interactions*, *3*, 1-15. (In Persian)
36. Nastari Nasrabadi, H., & Saberali, S.F. (2020). Effect of polyethylene glycol pretreatment and melatonin on clod resistance of 'Khatoni' melon (*Cucumis melo* L.) transplant. *Journal of Horticultural Science*, *34*(3), 481-491. (In Persian with English abstract)
37. Oloumi, H., Nasibi, H., & Mozaffari, H. (2018). Investigation of the growth rate and secondary metabolites content of *Lepidium sativum* under exogenous melatonin treatment. *Journal of Nova Biologica Reperta*, *5*(2), 144-154. (In Persian with English abstract)
38. Omidbaigi, R. (2000). *Approaches to production and processing of medicinal plants*. AstaneQuds Razavi Publication, Tehran.
39. Parida, A.K., & Das, A.B. (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants: A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *60*(3), 324-349. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2004.06.010
40. Park, S., & Back, K. (2012). Melatonin promotes seminal root elongation and root growth in transgenic rice after germination. *Journal of Pineal Research*, *53*(4), 385-389. https://doi.org/10.1111/j.1600-079X.2012.01008.x
41. Porra, R.J. (2002). The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls a and b. *Photosynthesis Research*, *73*, 149-156. https://doi.org/10.1023/A:1020470224740
42. Ranjan, R., Bohra, S.P., & Jeet, A.M. (2001). *Book of plant senescence*. Jodhpur Agrobios New York.
43. Sefidkon, F. (2001). Essential oil of the aerial parts and fruits of *Coriandrum Sativum*. *Iranian Journal of Medicinal and Plants*, *13*, 71-87. (In Persian with English abstract)
44. Sims, D.A., & Gamon, J.A. (2002). Relationships between leaf pigment content and spectral reflectance across a wide range of species, leaf structures and developmental stages. *Remote Sensing of Environment*, *81*, 337-354. https://doi.org/10.1016/S0034-4257(02)00010-X
45. Singh, A.K. (2004). The physiology of salt tolerance in four genotypes of chickpea during germination. *Journal of Agricultural Science and Technology*, *6*, 87-93.
46. Singleton, V.L., & Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, *16*, 144-158.
47. Strain, H.H., & Svec, W.A. (1966). *Extraction, separation, estimation and isolation of chlorophylls*. Academic press. New York.
48. Tan, D.X., Hardeland, R., Manchester, L.C., Korkmaz, A., Ma, S., Rosales-Corral, S., & 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. https://doi.org/10.1093/jxb/err256
49. Turan, S., & Tripathy, B. (2014). Salt-stress induced modulation of chlorophyll biosynthesis during de-etiolation of rice seedlings. *Physiologia Plantarum*, *153*(3), 477-491. https://doi.org/10.1111/ppl.12250
50. Turk, H., Erdal, S., Genisel, M., Atici, O., Demir, Y., & Yanmis, D. (2014). The regulatory effect of melatonin on physiological, biochemical and molecular parameters in cold-stressed wheat seedlings. *Plant Growth Regulation*, *74*, 139-152. https://doi.org/10.1007/s10725-014-9905-0
51. Wang, L.Y., Liu, J.L., Wang, W.X., & Sun, Y. (2016). Exogenous melatonin improves growth and photosynthetic capacity of cucumber under salinity-induced stress. *Photosynthetica*, *54*, 19-27. https://doi.org/10.1007/s11099-015-0140-3
52. Wang, P., Sun, X., Xie, Y., Li, M., Chen, W., Zhang, S., & Ma, F. (2014). Melatonin regulates proteomic changes during leaf senescence in *Malus hupehensis*. *Journal of Pineal Research*, *57*(3), 291-307. https:doi.org/10.1111/jpi.12169
53. Wang, Y.L., Wang, X.D., Zhao, B., & Wang, Y.C. (2007). Reduction of hyperhydricity in the culture of Lepidium meyenii shoots by the addition of rare earth elements. *Plant Growth Regulation*, *52*, 151-159. https://doi.org/10.1007/s10725-007-9185-z
54. Xu, X.D., Sun, Y., Sun, B., Zhang, J., & Guo, X.Q. (2010). Effects of exogenous melatonin on active oxygen metabolism of cucumber seedlings under high temperature stress. *Ying Yong Sheng tai xue bao= The Journal of Applied Ecology*, *21*(5), 1295-1300.

55. Zare zeinali, M., nasibi, F., Manuchehri Kalantari, K., & Ahmadi Mousavi, E. (2020). Effect of melatonin premedication on some physiological parameters and reduction of oxidative stress in *Tagetes etecta* seedlings under salt stress. *Journal of Plant Process and Function*, *9*(35), 115-125. (In Persian with English abstract)
56. Zhang, H.J., Zhang, N.A., Yang, R.C., Wang, L., Sun, Q.Q., Li, D.B., & Guo, Y.D. (2014). Melatonin promotes seed germination under high salinity by regulating antioxidant systems, ABA and GA 4 interaction in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Journal of Pineal Research*, *57*(3), 269-279. https://doi.org/10.1111/jpi.12167
57. Zhang, N., Sun, Q., Zhang, H., Cao, Y., Weeda, S., Ren, S., & Guo, Y.D. (2015). Roles of melatonin in abiotic stress resistance in plants. *Journal of Experimental Botany*, *66*(3), 647-656. https://doi.org/10.1093/jxb/eru336
58. Zhang, N., Zhao, B., Zhang, H.J., Weeda, S., Yang, C., Yang, Z.C., & Guo, Y.D. (2013). Melatonin promotes water- stress tolerance, lateral root formation, and seed germination in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Journal of Pineal Research*, *54*(1), 15-23. https://doi.org/10.1111/j.1600-079X.2012.01015.x
59. Zhang, Y.P., Xu, S., Yang, S.J., & Chen, Y.Y. (2017). Melatonin alleviates cold-induced oxidative damage by regulation of ascorbate–glutathione and proline metabolism in melon seedlings (*Cucumis melo* L.). The *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, *92*(3), 313-324. https://doi.org/10.1080/14620316.2016.1266915
60. Zou, J.N., Jin, X.J., Zhang, Y.X., Ren, C.Y., Zhang, M.C., & Wang, M.X. (2019). Effects of melatonin on photosynthesis and soybean seed growth during grain filling under drought stress. *Photosynthetica*, *57*(2), 512-520. https://doi.org/10.32615/ps.2019.066

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

CC BY

Research Article
Vol. 37, No. 2, Summer 2023, p. 577-588

Study the Changes of Some Water Relations and Net Photosynthesis of Three Iranian Melon Population (*Cucumis melo*) under Water Deficit Stress

N. Zeinali Pour [1*], F. Aghebati [2]

Received: 25-09-2022
Revised: 30-12-2022
Accepted: 31-12-2022
Available Online: 31-12-2022

How to cite this article:
Zeinali Pour, N., & Aghebati, F. (2023). Study the changes of some water relations and net photosynthesis of three Iranian melon population (*Cucumis melo*) under water deficit stress. *Journal of Horticultural Science, 37*(2), 577-588. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jhs.2022.78942.1196

Introduction

Drought stress is one of the most common environmental stresses that limits agricultural production through disruption of physiological processes and reduces plant performance. Since in most parts of the world, including in Iran, melon plants and generally pumpkins are cultivated in hot and dry areas, and in these areas the main challenge is due to the limitation of suitable water for agriculture, the possibility of various types of stress, including water deficit stress (partial or severe) in the cultivation of these plants is relatively high. From this point of view, it seems necessary to study and know the tolerant cultivars and masses and ways to improve water management. Among the physiological characteristics, leaf water status, membrane stability, photosynthesis changes and related factors are of special importance in relation to tolerance of stressful conditions and especially dehydration. A review of scientific sources shows that due to the relative importance of melons among fruit vegetables, no comprehensive research has been done on the effect of water stress on the yield and stress level evaluation indicators in Garmak and Dudaim groups. This research has tried to investigate and evaluate this issue in some products of this group of vegetables that have been less studied.

Materials and Methods

This experiment was carried out in the form of a split plot design in the form of randomized complete blocks and in four replications in the Mahan greenhouse complex located 25 km from Kerman province. Experimental treatments include; There were three plants (Shahdad and Isfahan cantaloupe (Garmak) and Birjand dudaim (*Cucumis melo* group dudaim)) and three levels of irrigation in order to apply stress (starting irrigation at matric potentials of -45 (control), -55 and -65 kPa). The parameters of net photosynthesis rate, stomatal conductance, leaf transpiration rate, leaf chlorophyll index, water potential, osmosis and turgor potential of leaves, water use efficiency and leaf relative humidity were measured and evaluated.

Results and Discussion

Based on the results of the first and third tables, the three population were different in the changes in the net rate of photosynthesis under different levels of dehydration stress, but the change process in them was largely similar. The highest rate of net photosynthesis and leaf stomatal conductance was obtained in Isfahan cantaloupe population plants under control irrigation (-45 kPa), which, of course, did not have a significant difference with plants under -55 kPa dehydration stress, and the lowest rate of these traits in Birjand dudaim under irrigation at matric potential -65 kPa was measured. A more severe level of dehydration stress (starting irrigation at matric potential of -65 kPa) reduced the net photosynthetic rate in all three plants compared to control irrigation (-45

1 and 2- Assistant Professor and M.Sc. Graduate, Department of Horticultural Science, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: nzeinali@uk.ac.ir)
DOI: 10.22067/jhs.2022.78942.1196

kPa). It seems that under the conditions of this experiment, the reduction of the relative humidity of the leaves occurs following the reduction of the water potential in the leaves and leads to the closing of the stomata in order to increase the resistance of the mesophyll cells against the dehydration stress and parallel to these changes, the reduction it happens in the amount of stomatal conductance and as a result the rate of net photosynthesis. The rate of leaf transpiration in matric potentials of -55 and -65 kPa has decreased significantly compared to control irrigation. The decrease in transpiration rate in plants under stress is probably due to stomatal closure and reduction of stomatal conductance. Plants under stress prevent excessive water loss through transpiration by regulating stomata. Based on the results of the second and fourth tables, by measuring the water potential, osmosis and turgor potential of the leaves of the three population used, it was shown that the water potential of the leaf decreased with the increase in the water stress levels. The slope of this decrease is such that the potential values are equal to the osmotic potential values of the leaf and the turgor potential, which is the result of the difference between the osmotic and water potentials of the leaf, also decreases, but it is the turgor pressure that has increased and in a more positive way. even at the end of the stress period and at the most extreme level of stress, it reaches zero. This same turgor pressure maintains the normal state of the membrane in cells under dehydration stress. In fact, the extreme level of water stress in this experiment significantly reduced the osmotic potential of the leaf. The highest amount of osmotic potential (8.5 Bar) for these plants was obtained in the usual or control irrigation treatment and the lowest (22 Bar) in the more severe level of dehydration stress treatment (watering as soon as the matric potential reaches -65 kPa) was obtained. At matric potentials of -45 and -55, there was no significant difference between the three population in terms of leaf relative humidity percentage, but in Garmak and Dudaim populations, the relative humidity of leaves was significantly reduced by applying stress at the matric potential of -65 kPa. This is despite the fact that in the Isfahan cantaloupe, the decrease in the relative humidity of the leaf was not significant. The existence of this difference in the reduction of the relative humidity of the leaves in the conditions of stress between the three plants may be due to the genetic differences in the ability of the stomata of the plants to lose water. In fact, more drought tolerant population (Isfahan Garmak) compared to Shahdad Garmak and Birjand dudaim have better maintained relative humidity until the end of the stress.

Conclusion

Plants with the ability to regulate osmosis can be considered as drought tolerant plants. This adjustment in the plants of this experiment occurred in the condition that in all three population, the osmotic potential decreased by -19 to -22 Bar. This event is to some extent guaranteeing the performance of pure photosynthesis, although at a low rate in these plants, in the condition that the water potential of the cell has become negative at the level of severe water deficit stress, at the end of growth.

Keywords: Dudaim, Garmak cantaloupe, Matric potential, Water use efficiency

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

مقاله پژوهشی
جلد ۳۷، شماره ۲، تابستان ۱٤۰۲، ص. ۵۷۷-۵۸۸

مطالعه تغییرات برخی روابط آبی و فتوسنتز خالص سه توده ملون ایرانی (*Cucumis melo*) تحت تنش کم آبی

نجمه زینلی‌پور[1*] - فاطمه عاقبتی[2]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۷/۰۳
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۱۰/۰۹
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۱۰

چکیده

کم آبیاری به عنوان یک رویکرد ارزشمند برای تولید پایدار و بهبود کارآیی مصرف آب به ویژه در مناطقی که با کمبود آب رو به رو هستند، مورد توجه قرار گرفته است. از این رو به منظور بررسی اثر تنش کم آبی بر برخی روابط آبی و نرخ فتوسنتز خالص در گونه‌های ملون ایرانی، آزمایشی به صورت طرح کرت‌های خرد شده در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار در مجتمع گلخانه‌ای واقع در منطقه ماهان در سال ۱۳۹۸ انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل؛ سه سطح آبیاری (شروع آبیاری در پتانسیل‌های ماتریک ۴۵- (شاهد)، ۵۵- و ۶۵- کیلوپاسکال) و سه نوع از توده‌های ملون بومی ایران شامل؛ دستنبوی بیرجند و دو گونه گرمک اصفهان و شهداد بودند. نتایج به دست آمده از این پژوهش حاکی از آن بود که بیشترین نرخ فتوسنتز خالص به میزان ۲۰/۱ میکرومول کربن دی اکسید بر متر مربع بر ثانیه و هدایت روزنه‌ای برگ به میزان ۰/۹۸۷ میلی‌مول کربن دی اکسید بر متر مربع بر ثانیه در بوته‌های توده گرمک اصفهان تحت آبیاری شاهد (۴۵- کیلوپاسکال) دیده شد. سرعت تعرق برگ نیز در پتانسیل‌های ماتریک ۵۵- و ۶۵- کیلوپاسکال نسبت به آبیاری شاهد کاهش نشان داد. بیشترین میزان سبزینگی برگ در پتانسیل ماتریک ۴۵- کیلوپاسکال در هر سه توده (گرمک شهداد، گرمک اصفهان و دستنبوی بیرجند) مورد مطالعه مشاهده گردید. کاهش عملکرد محصول در شدیدترین سطح تنش با پتانسیل ماتریک ۶۵- کیلوپاسکال در هر سه توده گرمک شهداد، گرمک اصفهان و دستنبوی بیرجند مشاهده شد. میزان پتانسیل اسمزی در هر سه توده در پتانسیل ماتریک ۴۵- در پایین‌ترین حد خود بود. بالاترین میزان پتانسیل تورژسانس نیز در پتانسیل ماتریک ۴۵- در دو توده گرمک شهداد و گرمک اصفهان مشاهده شد. بیشترین میزان کارآیی مصرف آب در شرایط تنش کم آبی شدید (پتانسیل ماتریک ۶۵- کیلوپاسکال) و در توده گرمک اصفهان به دست آمد. هم‌چنین درصد رطوبت نسبی برگ در هر سه توده در پتانسیل ماتریک ۶۵- در پایین‌ترین مقدار خود بود. هر سه گروه ملون مورد آزمایش تحت تیمار کم آبیاری ۵۵- کیلوپاسکال در تناسب با گیاهان شاهد هم‌چنان از میزان مؤلفه‌های فتوسنتزی بهتری برخوردار بودند و ضمن ارتقاء کارآیی مصرف آب به عنوان یک سطح تنش خفیف در محدوده تحمل نسبی این گیاهان قرار داشته است. از این رو شاید بتوان توده دستنبوی بیرجند را دارای قابلیت تنظیم اسمزی بهتری در شرایط تنش رطوبتی دانست و این توده را متحمل‌تر از دو توده بومی دیگر در شرایط کم آبیاری تلقی کرد.

واژه‌های کلیدی: پتانسیل ماتریک، دستنبو، کارآیی مصرف آب، گرمک

---

۱ و ۲- به‌ترتیب استادیار و دانش آموخته کارشناسی ارشد بخش علوم و مهندسی باغبانی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: nzeinali@uk.ac.ir)

DOI: 10.22067/jhs.2022.78942.1196

مقدمه

تنش خشکی از متداول‌ترین تنش‌های محیطی است که تولیدات کشاورزی را از طریق اختلال در فرآیندهای فیزیولوژیک با محدودیت مواجه ساخته و عملکرد گیاه را کاهش می‌دهد (Armand *et al.*, 2015). از آن جا که در اغلب نقاط جهان و از جمله در ایران، گیاهان خربزه‌ای و عموما کدوییان بیشتر در نواحی گرم و خشک کشت و کار می‌شوند و در این مناطق چالش اصلی بر سر محدودیت آب مناسب برای کشاورزی است، احتمال وقوع انواع تنش از جمله تنش‌های کم آبی (جزیی یا شدید) در کشت و پرورش این گیاهان نسبتا بالا است. از این جهت، مطالعه و شناخت ارقام و توده‌های متحمل و راهکارهای بهبود مدیریت آب ضروری به نظر می‌رسد. در میان ویژگی‌های فیزیولوژیک، وضعیت آب برگ، پایداری غشاء، تغییرات فتوسنتز و عوامل مرتبط با آن از اهمیت ویژه‌ای در ارتباط با تحمل شرایط تنش زا و به خصوص کم آبی برخوردار هستند. رطوبت نسبی بالاتر گیاه، به معنی توانایی برگ در حفظ مقادیر بیشتر آب در شرایط تنش می‌باشد (Siosemardeh *et al.*, 2005). ژنوتیپ‌هایی که قادرند بدون بستن روزنه‌ها آب بیشتری را در برگ‌ها حفظ کنند، برای مناطق خشک مناسب‌ترند (Blum *et al.*, 1981). رطوبت نسبی بالاتر برگ ممکن است از طریق قابلیت تنظیم اسمزی و با توانایی ریشه در جذب آب حاصل شود و تعادل بین آب تأمین شده برای برگ و سرعت تعرق را بهتر از سایر اجزای روابط آبی منعکس می‌کند که به این دلیل آن را شاخص مناسبی برای نمایش وضعیت آبی برگ دانسته‌اند (Sanchez-Rodrıguez *et al.*, 2010). تحت شرایط تنش‌های خشکی و گرما، غشاء سلولی پایداری خود را از دست داده و در صورت قرار گرفتن برگ در یک محیط آبی مواد محلول از سلول‌های آن تراوش می‌یابند، بنابراین پایداری غشاء به وسیله ارزیابی تراوش یون‌ها از آن تعیین می‌شود. میزان هدایت الکتریکی در محیط آبی، خسارت تنش خشکی و یا تنش گرمایی را به غشاء سلولی نشان می‌دهد و میزان پایداری غشاء سلولی به خوبی با تحمل سایر فرآیندهای گیاهی به تنش از جمله فتوسنتز مرتبط است و به عنوان شاخصی از تحمل به تنش ارائه شده است (Sairam *et al.*, 2002). همچنین گزارش شده است که قدرت گیاهان در حفظ فتوسنتز، رطوبت نسبی برگ و ظرفیت فتوسنتزی می‌تواند یکی از مهم‌ترین عوامل اثرگذار در تحمل به تنش خشکی محسوب گردد (Sajjadinia *et al.*, 2010). محتوای رطوبت نسبی برگ همبستگی بالایی با میزان پتانسیل آب برگ دارد. کاهش رطوبت نسبی برگ در ابتدا منجر به بسته شدن روزنه‌ها و کاهش فتوسنتز و با افزایش شوری منجر به توقف انتقال الکترون و ممانعت نوری در چرخه فتوسنتزی می‌شود (Flexas and Medrano, 2002). با توجه به این که یکی از آثار تنش شوری جلوگیری از جذب آب و ایجاد تنش خشکی است، می‌توان علت کاهش محتوای رطوبت نسبی برگ را کاهش جذب آب از ریشه‌ها در شرایط تنش خشکی دانست (Colom and Vazzana, 2003). از سوی دیگر، هر نوع افزایش در فشار اسمزی سلول ناشی از تنش، به حفظ حالت تورژسانس کمک می‌کند و در حقیقت تغییرات اندک در وضعیت تورژسانس گیاه متحمل وسیله‌ای است که تنش از طریق آن، متابولیسم گیاه را متأثر می‌سازد و بنابراین لازم است که در نظر گرفته شوند (Bagheri, 1996). در شرایط تنش خشکی میزان دی‌اکسید کربن قابل دسترس برای فتوسنتز به واسطه کاهش میزان هدایت روزنه‌ای و مزوفیلی کاهش می‌یابد (Flexas *et al.*, 2007). از سوی دیگر کاهش مقدار تولید و ایجاد وقفه در فرایند چرخه تثبیت کربن به ایجاد محدودیت متابولیک و در ادامه به کاهش فتوسنتز منجر می‌شود (Li *et al.*, 2006). از دیگر پیامدهای تنش به ویژه تنش خشکی کاهش محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی در اثر افزایش گونه‌های واکنش‌گر و فعال اکسیژن (ROS) و ایجاد تنش اکسیداتیو است (Armand *et al.*, 2015).رادیکال‌های آزاد اکسیژن از طریق پراکسیداسیون و تجزیه کلروفیل‌ها منجر به کاهش واکنش‌های نوری فتوسنتز و کاهش تولید مواد پر انرژی مورد نیاز از قبیل NADPH و ATP برای واکنش‌های تاریکی فتوسنتز (چرخه بنسون کالوین) می شوند (Hosseinzadeh *et al.*, 2016). گزارش‌های متعددی اشاره دارند به این که حفظ محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی از قبیل کلروفیل a، b و کارتنوئید در شرایط تنش خشکی به ثبات فتوسنتز کمک می‌کنند (Beyk Khurmizi *et al.*, 2013; Hosseinzadeh *et al.*, 2014). به طور معمول عملکرد گیاهان با رشد گیاه رابطه مثبت دارد و اگر مقدار آب قابل دسترس به میزان کافی نباشد، در پی آن مقدار عملکرد کاهش می‌یابد. به طور کلی این مسئله پذیرفته شده است که مقدار آبیاری روی عملکرد و همچنین صفات رویشی دیگر مانند سطح برگ، صفات کمی و کیفی میوه اثرگذار است که با وجود تنش این مقادیر تغییر می‌کند. نیاز آبی محصولات خانواده کدوییان بیشتر از دیگر محصولات است زیرا حجم عمده میوه را آب تشکیل می‌دهد. مهم‌ترین مسئله در رویارویی با شرایط کم آبی به ویژه برای محصولاتی که نیاز به آب بیشتری دارند، مدیریت بهینه کاشت و آبیاری است. راه حلی که امروزه توجه بسیاری را به خود جلب کرده است استفاده از توده‌های بومی و محلی است. پی بردن به این که توده‌های بومی مقاومت بیشتری در شرایط تنش خشکی نسبت به رقم های تجاری می‌توانند داشته باشند، دارای اهمیت است (Soltani *et al.*, 2018).

مرور منابع علمی نشان می‌دهد که با توجه به اهمیت نسبی ملون‌ها در بین سبزی‌های میوه‌ای، تحقیقات جامعی در مورد نحوه تأثیر تنش‌های کم آبی بر عملکرد و شاخص‌های ارزیابی سطح تنش

ها در گونه‌های گرمک و دستنبو انجام نشده است. بنابراین در این پژوهش تلاش شده است تا این موضوع در برخی محصولات این گروه از سبزی‌ها که کمتر مورد مطالعه قرار گرفته‌اند، مورد بررسی و ارزیابی بیشتری قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به صورت طرح کرت‌های خرد شده در قالب بلوک های کامل تصادفی و در چهار تکرار در مجتمع گلخانه‌ای ماهان واقع در ۲۵ کیلومتری استان کرمان در سال ۱۳۹۸ اجرا گردید. تیمارهای آزمایش شامل؛ سه توده ملون بومی (گرمک شهداد، گرمک اصفهان (*Cucumis melo* var. cantalupensis (Garmak and Isfahan population)) و دستنبوی بیرجند (*Cucumis melo* var. dudaim (Birjand population)) و سه سطح آبیاری به منظور اعمال تنش (شروع آبیاری در پتانسیل‌های ماتریک ۴۵- (شاهد)، ۵۵- و ۶۵- کیلوپاسکال) بودند. مبنای انتخاب این سه توده بومی ایرانی، سابقه نادر و کم تحقیق در مورد آن‌ها بوده است که با توجه به توانمندی زیاد این سه گیاه در تولید بتاکاروتن بسیار بالا در بین ملون‌های ایرانی مورد توجه قرار گرفت. مبنای اعمال تنش اعلام زمان آبیاری در سه پتانسیل ماتریک مختلف (از شرایط نزدیک به حد ظرفیت زراعی این گیاهان تا سطوح تنش خفیف و شدیدتر) با کارگذاری و نمایش اعداد پتانسیل ماتریک نمایش‌گر تانسیومتر بود. بذرهای خیس خورده گیاهان، درون گلدان‌های پالتی با عمق ۷۰ سانتی‌متر متشکل از ترکیب خاک باغبانی، پیت و ماسه که به نسبت‌های ۸:۱:۱ پر شده بودند، کشت شدند و از یک کود کامل (NPK۲۰-۲۰-۲۰) کند رها شونده نیز استفاده گردید. گیاهان تا قبل از شروع تیمارهای تنش هر پنج روز یک بار آبیاری می‌شدند. تیمارهای تنش بلافاصله با تشکیل اولین میوه آغاز شدند و به مدت ۶۰ روز و تا پایان فصل رشد ادامه یافتند.

جهت اندازه‌گیری میزان پتانسیل ماتریک خاک از تانسیومتر (Irrometer company, Inc. P.O. USA) استفاده شد (Zeinali *et al.*, 2016). تمامی عملیات داشت و مراقبت طبق روال معمول برای این گیاهان انجام شد. اندازه‌گیری پارامترهای مختلف در مرحله رسیدن کامل اولین سری میوه‌های تشکیل شده، همزمان با گذشت ۳۵ روز پس از اعمال تنش‌های آبیاری صورت گرفت. اندازه‌گیری نرخ خالص فتوسنتز، هدایت روزنه‌ای و سرعت تعرق برگ روی سه برگ کاملا توسعه یافته بین گره سوم تا هفتم روی ساقه اصلی گیاه با استفاده از فتوسنتزمتر (LI- 6400 - Lincoln, Nebraska, USA, Licor inc.) انجام شد و میانگین داده‌ها برای این سه برگ جهت تجزیه استفاده شد. نرخ فتوسنتز خالص تحت شرایط طبیعی یعنی؛ CO_2 (400 μmol^{-1})، اختلاف فشار بخار ۱ کیلوپاسکال، تراکم جریان فوتون فتوسنتزی ۱۰۰۰ μmol quanta m^{-2} s^{-1} و دمای برگ ۲۵ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری پتانسیل آب برگ‌ها از محفظه فشار استفاده شد (Zeinali *et al.*, 2016). این دستگاه دارای یک کپسول حاوی گاز نیتروژن با فشار زیاد است. طبق روش با مشاهده خروج اولین قطره شیره از انتهای برگ بلافاصله یادداشت برداری انجام شد. یادآوری می‌گردد که در این روش اندازه گیری، سرعت انجام عملیات از اهمیت خاصی برخوردار است زیرا با گذشت زمان، احتمال از دست رفتن رطوبت برگ وجود دارد. اندازه گیری میزان پتانسیل اسمزی برگ‌ها با استفاده از دستگاه اسمومتر کالیبره (Micro Digital Osmometer type 15, camlab, United Kingdom) صورت گرفت. پتانسیل تورژسانس برگ‌ها، از اختلاف پتانسیل‌های آب و اسمزی برگ‌ها به دست آمد. همچنین رطوبت نسبی آب در مراحل مختلف و در طی دوره اعمال تنش کم آبی بر گیاهان اندازه‌گیری شد. به این منظور قطعاتی از برگ گیاهان سه توده با استفاده از استوانه مخصوص به صورت دیسک‌های هم اندازه انتخاب و وزن تر آن‌ها محاسبه شد. اندازه‌گیری کارآیی مصرف آب در سطح برگ تیمارهای آزمایش از فرمول نسبت میزان آسیمیلاسیون دی اکسید کربن بر میزان تعرق برگ به دست آمد. اندازه‌گیری شاخص کلروفیل با استفاده از دستگاه کلروفیل‌سنج (Minolta-502) انجام شد. تعیین شاخص کلروفیل برگ بر اساس میانگین پنج تکرار در هر تیمار بود و برای رعایت شرایط یکنواخت از همان برگ‌های مورد استفاده در سنجش تبادلات گازی استفاده گردید.

نتایج حاصل با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند و بررسی مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

نرخ خالص فتوسنتز، هدایت روزنه‌ای و سرعت تعرق برگ

بررسی نتایج به دست آمده از جداول (۱ و ۳) نشان داد که سه توده مورد نظر در این پژوهش، در تغییرات نرخ خالص فتوسنتز تحت سطوح مختلف تنش کم آبی متفاوت بودند، اما روند تغییر در آن‌ها تا حدود زیادی مشابه بود. بیشترین نرخ فتوسنتز خالص و هدایت روزنه ای برگ در بوته‌های توده گرمک اصفهان تحت آبیاری شاهد (۴۵- کیلوپاسکال) به دست آمد که البته تفاوت معنی‌داری با بوته‌های تحت تنش کم آبی ۵۵- کیلوپاسکال نداشت و کمترین میزان این صفات در دستنبوی بیرجند تحت آبیاری در پتانسیل ماتریک ۶۵- کیلوپاسکال اندازه‌گیری شد. سطح شدیدتر تنش کم آبی (شروع آبیاری در پتانسیل ماتریک ۶۵- کیلوپاسکال) نرخ فتوسنتز خالص را در هر سه گیاه نسبت به آبیاری شاهد (۴۵- کیلوپاسکال) کاهش داد. به نظر می‌رسد

که در شرایط این آزمایش کاهش رطوبت نسبی برگ (که در ادامه بررسی می‌شود) به دنبال کاهش پتانسیل آب در برگ‌ها رخ می‌دهد و منجر به بسته شدن روزنه‌ها به منظور افزایش مقاومت سلول‌های مزوفیل در برابر تنش کم آبی شده و به موازات این تغییرات، کاهش در میزان هدایت روزنه‌ای و در نتیجه نرخ فتوسنتز خالص اتفاق می‌افتد (Cornic and Massaci, 1996). البته در تحقیق دیگری اظهار شده است که با اعمال تنش خشکی ابتدا هدایت روزنه‌ای کاهش می‌یابد، سپس رطوبت نسبی برگ و فتوسنتز شروع به کاهش می‌نمایند (Ritchie *et al*., 1990). کاهش شدید هدایت روزنه‌ای با تغییر رطوبت نسبی برگ بیانگر آن است که احتمالا سیگنال‌های ارسالی از ریشه در شرایط تنش خشکی و کم آبی عامل بسته شدن روزنه‌ها، کاهش تعرق برگ‌ها و کاهش فتوسنتز می‌باشد، این سیگنال همان اسید آبسیزیک (ABA) است (Taize and Zaiger, 2007). هم‌چنین مشاهده گردید که سرعت تعرق برگ در پتانسیل‌های ماتریک ۵۵- و ۶۵- کیلوپاسکال نسبت به آبیاری شاهد به طور معنی داری کاهش داشته است. کاهش سرعت تعرق در گیاهان تحت تنش احتمالا به دلیل بسته شدن روزنه‌ها و کاهش هدایت روزنه‌ای می‌باشد. گیاهان تحت تنش، توسط تنظیم روزنه‌ای از اتلاف زیاد آب از طریق تعرق جلوگیری می‌کنند (Chinnusamy *et al*., 2004). در گزارشی آمده که در اثر اعمال تنش به تدریج هدایت روزنه‌ای در بافت برگ های خربزه کاهش یافت. کاهش هدایت روزنه‌ای یا بسته شدن روزنه ها کاهش فتوسنتز و رشد گیاه را به همراه دارد. در خربزه هدایت روزنه‌ای در اثر اعمال تنش به تدریج کاهش یافت و هم چنین بین ارقام خربزه اختلاف معنی‌دار یاز نظر هدایت روزنه‌ای مشاهده نگردید (Barzegar *et al*., 2011). در میوه‌های خربزه در طول دوره تنش کم آبی سطح کل برگ برای هر گیاه به طور معنی‌داری کاهش یافت و کاهش سطح برگ در اثر، دلیل اصلی کاهش عملکرد محصول نیز بود (Shao *et al*., 2008). تحت تأثیر تنش شوری میزان فتوسنتز و هدایت روزنه‌ای در خربزه گنگی بیشترین میزان کاهش را به دنبال داشت، این در حالی است که تعرق در این توده افزایش یافته و پتانسیل آب برگ منفی‌تر شده بود (Shafiee *et al*., 2019).

شاخص کلروفیل برگ

نتایج تجزیه واریانس بیانگر آن بود که با افزایش دور آبیاری از پتانسیل ماتریک ۴۵- به ۶۵- کیلوپاسکال و به موازات شدیدتر شدن تنش کم آبی، شاخص کلروفیل برگ‌ها کاهش معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد نشان داده است (جدول ۱). بیشترین میزان سبزینگی برگ در پتانسیل ماتریک ۴۵- کیلوپاسکال در هر سه توده مورد مطالعه مشاهده شد (جدول ۳).

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس اثر سطوح مختلف آبیاری بر برخی صفات فیزیولوژیکی سه توده ملون ایرانی

Table 1- The ANOVA results for the effect of different levels of irrigation on some physiological traits of three Iranian melon population

منابع تغییرات Sources of variation	درجه آزادی Degrees of freedom	نرخ فتوسنتز Photosynthesis rate	هدایت روزنه‌ای برگ Leaf stomatal conductance	سرعت تعرق برگ Leaf transpiration rate	شاخص کلروفیل برگ Leaf chlorophyll index	عملکرد Yield
تکرار Replicate	3	6.8 ns	4.67 ns	0.01 ns	27.50 ns	12.4 ns
آبیاری Irrigation (a)	2	370.97 **	1.35 *	6.62 *	4.77 *	428.16 **
خطای اصلی Main Error (a)	6	62.4	12.17	0.08	128.80	9.1
توده Population (b)	2	32.62 *	0.94 ns	4.43 ns	700.19 ns	35.70 *
a×b	4	16.98 *	0.12 **	0.12 *	1.92 ns	23.4 **
خطای فرعی Sub Error (b)	18	2.53	1.73	0.26	5.47	3.18
ضریب تغییرات C.V (%)	-	11.46	5.76	17.15	7.63	14.55

**معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد، *معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد، ns عدم معنی‌داری.

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

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس اثر سطوح مختلف آبیاری بر پتانسیل و روابط آبی سه توده ملون ایرانی

Table 2- The ANOVA results for the effect of different irrigation levels on the water potential and relationships of three Iranian melon population

منابع تغییرات Sources of variation	درجه آزادی Degrees of freedom	پتانسیل آب برگ Leaf water potential	پتانسیل اسمزی Osmotic potential	پتانسیل تورژسانس Turgor potential	کارآیی مصرف آب Water efficiency	رطوبت نسبی برگ Leaf relative humidity
تکرار Replication	3	0.97 ns	0.84 ns	0.34 ns	4.90 ns	1.87 ns
آبیاری Irrigation (a)	2	619.80 **	238.67 **	172.67 **	636.50 **	173.21 **
خطای اصلی Main error (a)	6	1.09	0.93	0.64	17.25	4.53
توده Population (b)	2	6.79 ns	43.30 ns	13.28 ns	3323.3 **	377.21 **
a×b	4	17.80 ns	3.87 ns	2.17 ns	3718.74 **	0.72 *
خطای فرعی Sub error (b)	18	2.34	0.60	0.31	10.45	2.14
ضریب تغییرات C.V (%)	-	12.06	6.45	3.73	15.19	1.77

**معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد، *معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد، ns عدم معنی‌داری.

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

یکی از عوامل مؤثر بر کاهش هدایت مزوفیلی در جریان تنش کم آبی، کاهش غلظت کلروفیل می‌باشد. بررسی شاخص کلروفیل در دو رقم ملون حاکی از این بود که بیشترین سبزینگی برگ برای طالبی سمسوری و کمترین آن برای دستنبوی کرمان بود (Barzegar *et al.*, 2011). تنش خشکی در طولانی مدت در مراحل تشکیل گل، رشد کمی و کیفی محصولات طالبی و هندوانه را کاهش داد (Zeinali *et al.*, 2012).

میزان پتانسیل آب، اسمزی و تورژسانس برگ‌ها

نتایج تجزیه واریانس و مقایسه میانگین حاصل از سنجش پتانسیل‌های آب، اسمزی و تورژسانس برگ‌های سه توده مورد استفاده در این آزمایش، نشان داد که با افزایش سطوح تنش کم آبی، پتانسیل آب برگ کاهش یافته است (جداول ۲ و ۴). شیب این کاهش به حدی است که مقادیر پتانسیل با مقادیر پتانسیل اسمزی برگ مساوی شده است و پتانسیل تورژسانس نیز که حاصل اختلاف پتانسیل‌های اسمزی و آب برگ است نیز کاهش می‌یابد، اما این فشار تورژسانس است که افزایش یافته (به عبارتی مثبت‌تر شده) و حتی در اواخر دوره تنش و در شدیدترین سطح تنش کم آبی به صفر می‌رسد. همین فشار تورژسانس باعث حفظ حالت طبیعی غشاء در سلول‌های تحت تنش کم آبی می‌گردد. در واقع سطح شدید تنش کم آبی در این آزمایش، میزان پتانسیل اسمزی برگ را به طور معنی‌داری کاهش داد. بیشترین میزان پتانسیل اسمزی (۸/۵- بار) برای این گیاهان در تیمار آبیاری معمول یا شاهد و کمترین آن (۲۲- بار) در تیمار سطح شدیدتر تنش کم آبی (انجام آبیاری به محض رسیدن به پتانسیل ماتریک ۶۵- کیلوپاسکال) به دست آمد. در خربزه طولانی شدن فواصل آبیاری به نحوی که منجر به کاهش پتانسیل ماتریک خاک به مقدار کمتر از ۵۰- سانتی‌بار گردد، بروز تنش در گیاه خربزه را به دنبال دارد و باعث کاهش سطح برگ و به دنبال آن کاهش عملکرد می‌گردد (Barzegar *et al.*, 2011). تنش کم آبی یا کمبود آب زمانی در گیاه صورت می‌گیرد که تلفات آب در اثر تعرق بیشتر از میزان جذب آن باشد. رشد سلول به دلیل کاهش در فشار تورژسانس، در شرایط تنش خشکی کاهش می‌یابد. در شرایط کمبود آب، میزان آب برگ کاهش می‌یابد و کاهش پتانسیل آب برگ موجب بسته شدن روزنه و در نتیجه کاهش هدایت روزنه‌ای می‌گردد که این امر در نهایت باعث کاهش سرعت فتوسنتز و متعاقبا کاهش رشد می‌شود. تنش کم آبیاری در دو توده خربزه خاتونی و ایوانکی باعث کاهش شاخص‌های رشدی و عملکردی شد (Taghadosinia *et al.*, 2020). در شرایط تنش‌های محیطی دیگر مانند تنش شوری کاهش مقدار پتانسیل‌های آب و اسمزی برگ و نیز افت رطوبت نسبی برگ دور از انتظار نیست. در گزارشی دیگر نیز مشخص شد که با اعمال تنش شوری بر گیاه ارزن میزان پتانسیل اسمزی و رطوبت نسبی برگ دچار کاهش شدید شده است (Eshghi Zadeh *et al.*, 2014). کاهش شدید پتانسیل اسمزی در پاسخ به کمبود آب در سطوح تنش به کار رفته می‌تواند ناشی از تجمع محلول‌های اسمزی در واکوئل و انباشته شدن محلول ها در سلول باشد که منجر به کاهش حجم سلول می‌شود (Turner and Jones, 1980). این نتایج نشانگر سازگاری به تنش خشکی از

طریق تنظیم اسمزی در این گیاهان می‌باشد که به دنبال آن پایـداری و تعادل تورژسانس تحت شرایط کمبود آب رخ مـی‌دهـد. تنظیم اسمزی، محافظت اسمزی و سیستم آنتی‌اکسیدانی همگـی از روش-های اساسی پاسخ به تنش‌های خشکی و ایجاد مقاومت نسبت بـه آن ها هستند (Farooq *et al*., 2009). از بین مکانیسم‌هـای مختلـف، تنظیم اسمزی ممکن است تحمل گیاه را نسبت به آسیب‌های ناشی از تنش خشکی با حفظ پتانسیل آب بافت افزایش دهد (Turner *et al*., 1986). تنظیم اسمزی به حفظ تعادل آب سلول از طریق تجمع فعال اسمولیت‌ها کمک کرده و از این طریق حداقل خسارت ممکن ناشی از خشکی، به گیاه وارد می‌شود (Morgan *et al*., 1993). گزارش شده است که اثر تنش کم آبی در طی مراحل مختلف بر پتانسیل‌های آب، اسمز و تورژسانس برگ‌های طالبی سمسوری معنی‌دار بـود. بیشـترین کاهش در میزان پتانسیل آب برگ با گذشـت ۳۵ روز پـس از شـروع اعمال تنش کم آبی ۲۲- بار رخ داد. این تنظیم اسمزی در طـالبی در شرایطی رخ داد که پتانسیل اسـمزی تـا حـد ۲۲- بـار در شـدیدترین سطح تنش یعنی آبیاری در پتانسیل ماتریک ۷۵- کیلوپاسکال و پس از شروع ۳۵ روز از شروع تنش کم آبی نزول یافته است. همچنـین بـا افزایش سطوح تنش کـم آبـی از آبیـاری در پتانسـیل ماتریـک ۵۰- کیلوپاسکال تا شدیدترین سطح تـنش یعنـی پتانسیل ماتریـک ۷۵- کیلوپاسکال پتانسیل آب برگ کاهش یافته اسـت (Zeinali *et al*., 2016).

جدول ۳- نتایج مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف آبیاری بر برخی صفات فیزیولوژیکی سه توده ملون ایرانی

Table 3- The results of comparing the average effect of different irrigation levels on some physiological traits of three Iranian melon population

توده Population	سطوح آبیاری با پتانسیل ماتریک Irrigation levels with matric potential (kPa)	نرخ فتوسنتز Photosynthesis rate (µmol $CO_2.m^{-2}s^{-1}$)	هدایت روزنه‌ای برگ Leaf stomatal conductance (mmol $CO_2.m^{-2}.s^{-1}$)	سرعت تعرق برگ Leaf transpiration rate (mmol $H_2O.m^{-2}.s^{-1}$)	شاخص کلروفیل برگ Leaf chlorophyll index	عملکرد Yield ($ton.ha^{-1}$)
گرمک شهداد Shahdad cantaloupe	-45	17.1 ± 0.01 ^{b}	0.926 ^{a}	4.60 ^{a}	24 ± 0.6 ^{a}	19.80 ^{c}
گرمک شهداد Shahdad cantaloupe	-55	16.9 ± 0.02 ^{b}	0.743 ^{c}	1.77 ^{c}	21 ± 0.2 ^{b}	17.70 ^{d}
گرمک شهداد Shahdad cantaloupe	-65	11.3 ± 0.02 ^{d}	0.508 ^{e}	0.93 ^{d}	18 ± 0.5 ^{c}	11.10 ^{e}
گرمک اصفهان Isfahan cantaloupe	-45	20.1 ± 0.02 ^{a}	0.987 ^{a}	3.46 ^{b}	24 ± 0.8 ^{a}	24.40 ^{a}
گرمک اصفهان Isfahan cantaloupe	-55	17.9 ± 0.04 ^{b}	0.840 ^{b}	1.82 ^{c}	21 ± 0.2 ^{b}	22.70 ^{b}
گرمک اصفهان Isfahan cantaloupe	-65	11.6 ± 0.03 ^{d}	0.677 ^{d}	0.94 ^{d}	19 ± 0.4 ^{c}	17.20 ^{d}
دستنبوی بیرجند Birjand dudaim	-45	16.5 ± 0.03 ^{b}	0.765 ^{c}	4.84 ^{a}	21 ± 0.7 ^{a}	22.30 ^{b}
دستنبوی بیرجند Birjand dudaim	-55	15.2 ± 0.04 ^{b}	0.542 ^{e}	1.67 ^{c}	19 ± 0.6 ^{b}	21.70 ^{bc}
دستنبوی بیرجند Birjand dudaim	-65	8.9 ± 0.05 ^{e}	0.411 ^{f}	0.95 ^{d}	16 ± 0.4 ^{c}	16.20 ^{d}

میانگین‌های دارای حروف یکسان از نظر آماری تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن ندارند.

Means with the same letters do not have a significant difference at the 5% of probability level based on Duncan's multiple range test.

کارآیی مصرف آب

طبق نتایج جدول تجزیه واریانس، بررسی اثرات متقابل تـنش در توده بر کارآیی مصرف آب معنی‌دار شد (جدول ۲). همچنین مقایسات میانگین نشان داد که بیشترین میزان این صفت در شرایط تـنش کـم آبی شدید (شروع آبیاری در پتانسیل ماتریک ۶۵- کیلوپاسـکال) و در توده گرمک اصفهان به دست آمده است (جدول ۴). از آن جـایی کـه کارآیی مصرف آب بر اساس فرمول نسبت سرعت خالص فتوسنتز بـر میزان تعرق صورت گرفته در سـطح بـرگ تیمارهـا در ایـن آزمـایش محاسبه شده و به صورت پایه‌ای می‌توان، راندمان مصـرف آب را بـه عنوان نسبت کربن تثبیت شده به آب تعرق یافتـه بـر حسـب وزن یـا مول در نظر گرفـت (Farquhar and Richards, 1984). بـدیهی است که هر چه میزان تعرق در سطح برگ کمتر باشد، عدد مربوط به کارآیی مصرف آب بزرگ‌تر خواهد بود. در واقع در گیاهان تحـت ایـن تیمار، در سی و پنجمین روز پس از شروع تنش کم آبی مقـدار تعـرق در سطح برگ به میزان کاملا جزیی رسیده است که این موضـوع تـا حدی به دلیل پیری اجتناب ناپذیر برگ‌ها در طـی زمـان و بـه ویـژه تحت تأثیر تنش کم آبی اعمال شده، اتفاق افتـاده اسـت. بسـیاری از گونه‌های گیاهی که می‌توانند کمبود شدید آب را تحمل کنند، زمـانی که آب فراهم باشد از آن به طور کارآمد استفاده نمی‌کنند (Thomas, 1997). یادآوری می‌گردد که برخی از گونه‌های گیاهی که نسبت بـه کمبود شدید آب سازگاری یافته‌اند حتی در زمان بروز تـنش، رانـدمان مصرفشان در حد متوسط می‌باشد. تحت شرایط تنش کم آبـی، بسـته شدن جزیی روزنه‌ها، میزان تعرق را بیشتر از فتوسنتز کاهش داده و در نتیجه کارآیی مصرف آب افزایش می‌یابد، اما شرایط نامساعد محیطی و تنش شدید باعث بسـته شـدن کامـل روزنـه‌هـا گردیـده و کـارآیی مصرف آب به علت پایین آمدن فتوسنتز، میزان عملکـرد محصـول را به طور قابل تـوجهی کـاهش مـی‌دهـد (Kuchaki *et al*., 2001). محققان در این زمینه گزارشی ارائه دادند که طبـق آن در تـوده‌هـای مختلف خربزه تأثیر تنش کم آبی بر کارآیی مصرف آب معنی‌دار بـوده است و با کاهش آبیاری از ۱۰۰ درصد به ۳۳ درصـد نیـاز آبـی گیـاه، کارآیی مصرف آب افزایش یافت. بنـابراین آن‌هـا اظهـار داشـتند کـه خربزه می‌توانـد نسـبت بـه کـم آبـی متحمـل باشـد (Lotfi *et al*., 2017).

رطوبت نسبی برگ

طبق تجزیه واریانس اثر توده و تنش کم آبی هـر دو بـر رطوبـت نسبی برگ در سطح یک درصد معنی‌دار شدند و اثرات متقابل ایـن دو در سطح پنج درصد معنـی‌دار بـود (جـدول ۲). طـبق نتـایج مقایسـه میانگین، در پتانسیل‌های ماتریک ۴۵- و ۵۵- تفاوت معنی‌داری بـین سه توده از نظر رطوبت نسبی برگ مشاهده نشد، اما در تـوده گرمـک شهداد و دستنبو با اعمال تنش در پتانسیل ماتریک ۶۵- به طور معنی داری رطوبت نسبی برگ کاهش یافت (جدول ۴). این در حالی اسـت که در گرمک اصفهان کاهش رطوبت نسبی معنی‌دار نبود. وجود ایـن اختلاف کاهش رطوبت نسبی برگ در شرایط تنش بین سه گیـاه، بـه دلیل تفاوت‌های ژنتیکی در توانایی روزنه‌هـای گیاهـان نسـبت بـه از دست‌دهی آب می‌باشد. در واقـع تـوده‌هـای متحمـل‌تـر بـه خشـکی (گرمک اصفهان در مقایسه بـا گرمـک شـهداد و دسـتنبوی بیرجنـد) رطوبت نسبی را تا پایان تنش بهتر حفظ نمودنـد. در تـنش خشـکی متوسط، درصد رطوبت نسبی برگ ممکن است کـاهش یابـد، امـا در ظرفیت فتوسنتزی تغییری مشاهده نمی‌شود. در تنش خشکی شـدید سلول‌ها تا حد زیادی آب خود را از دست می‌دهند و در نتیجه رشد گیاه به شـدت محـدود مـی‌گـردد (Rohi and Siosemardeh, 2008). مطالعه بررسی تنش کم آبیاری بر روی هندوانه نشان داد که تنش کم آبیاری به طور معنی‌داری رشد، رطوبت نسبی و عملکـرد را کـاهش و درصد نشت یونی را افزایش داد (Parkhideh *et al*., 2018). بررسی اثر تنش کم آبی بر عملکرد و ویژگی‌های فیزیولوژیکی برخی از تـوده های خربزه ایرانی نشـان داد کـه تـنش کـم آبیـاری باعـث کـاهش محتوای نسبی آب برگ، هدایت روزنه‌ای و عملکرد در همه توده‌های مورد مطالعه در این تحقیق گردید. در گزارشی دیگر آمـده اسـت کـه تنش خشکی روی دو رقم خربزه سـبب کـاهش محتـوای آب نسـبی برگ و افزایش فعالیـت آنزیمـی شـده اسـت (Heydariyan *et al*., 2018).

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به دست آمده از این پژوهش می‌توان گفت کـه بالاترین نرخ فتوسـنتز خـالص و هـدایت روزنـه‌ای در تـوده گرمـک اصفهان تحت آبیاری ۴۵- کیلوپاسکال و بیشترین سرعت تعـرق نیـز در همین شـرایط آبیـاری در تـوده دسـتنبوی بیرجنـد مشـاهده شـد. بیشترین مقدار کلروفیل در آبیـاری شـاهد (۴۵- کیلوپاسـکال) در دو توده گرمک شهداد و گرمک اصفهان دیده شد. در واقع تنش کم آبـی اعمال شده درصد رطوبت نسبی برگ، نـرخ فتوسـنتز خـالص، میـزان کلروفیل برگ و پتانسیل‌های آب، اسمز و تورژسانس برگ را کاهش و کارآیی مصرف آب را افزایش داده است. در نهایت از جنبه بررسی اثـر تنش‌های سطح خفیف و شدیدتر کـاربردی در ایـن پـژوهش (۵۵- و ۶۵- کیلوپاسکال)، گیاه دستنبوی بیرجند کارآیی مصرف آب را بهبـود بخشیده و در سطح تنش خفیـف ۵۵- کیلوپاسـکال تقریبـا هـم تـراز سطح آبیاری شاهد، نرخ فتوسنتز خالص را حفظ نموده است. از این رو شاید بتوان توده دسـتنبوی بیرجنـد را دارای قابلیـت تنظـیم اسـمزی بهتری در شرایط تنش رطوبتی دانست و این توده را متحمـل‌تـر از دو توده بومی دیگر در شرایط کم آبیاری تلقی کرد.

جدول ٤- اثر سطوح مختلف آبیاری بر پتانسیل و روابط آبی سه توده ملون ایرانی

Table 4- The effect of different irrigation levels on the water potential and relationships of three Iranian melon population

توده **Population**	سطوح آبیاری با پتانسیل ماتریک **Irrigation levels with matric potential (kPa)**	پتانسیل آب برگ **Leaf water potential (Bar)**	پتانسیل اسمزی **Osmotic potential (Bar)**	پتانسیل تورژسانس **Turgor potential (Bar)**	کارآیی مصرف آب **Water efficiency (%)**	رطوبت نسبی برگ **Leaf relative humidity (%)**
گرمک شهداد Shahdad cantaloupe	-45	-1.5 ± 0.07 [a]	-9 ± 0.07 [a]	7.5 ± 0.02 [a]	3.93 ± 0.02 [c]	96 ± 0.2 [a]
گرمک شهداد Shahdad cantaloupe	-55	-10.5 ± 0.03 [b]	-13.5 ± 0.03 [b]	3 ± 0.00 [b]	9.50 ± 0.04 [b]	85 ± 0.3 [a]
گرمک شهداد Shahdad cantaloupe	-65	-21 ± 0.03 [c]	-21 ± 0.03 [c]	0 ± 0.00 [c]	12.10 ± 0.006 [a]	59 ± 0.6 [c]
گرمک اصفهان Isfahan cantaloupe	-45	-3 ± 0.03 [a]	-8.5 ± 0.03 [a]	5.5 ± 0.01 [a]	5.80 ± 0.05 [c]	99 ± 0.3 [a]
گرمک اصفهان Isfahan cantaloupe	-55	-12 ± 0.06 [b]	-11 ± 0.06 [b]	1 ± 0.00 [b]	9.87 ± 0.05 [b]	86 ± 0.3 [a]
گرمک اصفهان Isfahan cantaloupe	-65	-19 ± 0.06 [c]	-19 ± 0.06 [c]	0 ± 0.00 [c]	12.34 ± 0.03 [a]	77 ± 0.1 [b]
دستنبوی بیرجند Birjand dudaim	-45	-10 ± 0.07 [b]	-11 ± 0.07 [a]	1 ± 0.00 [b]	3.40 ± 0.02 [c]	98 ± 0.5 [a]
دستنبوی بیرجند Birjand dudaim	-55	-13 ± 0.04 [b]	-14 ± 0.04 [b]	1 ± 0.00 [b]	9.10 ± 0.01 [a]	83 ± 0.5 [a]
دستنبوی بیرجند Birjand dudaim	-65	-21 ± 0.05 [c]	-22 ± 0.05 [c]	0 ± 0.00 [c]	9.36 ± 0.04 [a]	54 ± 0.3 [c]

میانگین‌های دارای حروف یکسان از نظر آماری تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن ندارند.

Means with the same letters do not have a significant difference at the 5% of probability level based on Duncan's multiple range test.

منابع

1. Armand, N., Amiri, H., & Ismaili, A. (2015). Interaction of methanol spray and water deficit stress on photosynthesis and biochemical characteristics of *Phaseolus vulgaris* L. cv. Sadry. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, *4*, 147-153. http://doi.org/10.1111/php.12548
2. Bagheri, M. (1996). *Investigating effective physiological indicators in the evaluation of drought resistant wheat*. Master's thesis, Islamic Azad University of Karaj, page 43. (In Persian)
3. Barzegar, T., Delshad, M., Majd Abadi, A., Kashi, A., & Ghashghaie, J. (2011). Effect of water stress on growth, yield and some physiological parameters of Iranian melon. *Iranian Journal of Horticaltural Sciences*, *42*(2), 357-363. (In Persian with English abstract). http://doi.org/20.1001.1.2008482.1390.42.4.5.2
4. Beyk Khurmizi, A., Ganjeali, A., Abrishamchi, P., & Parsa, M. (2013). Interactions of vermicomopst and salinity on some morphological, physiological and biochemical traits of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedlings. *Iranian Journal of Pulses Research*, *4*(1), 81-98. (In Persian with English abstract). http://doi.org/10.22067/ijpr.v1392i1.33752
5. Blum, A., Gozlan, G., & Mayer, J. (1981). The manifestation of dehydration avoidance in wheat breeding

germplasm. *Journal of Crop Science*, *21*(4), 495-499. http://doi.org/10.2135/cropsci1981.0011183X002100040004x
6. Chinnusamy, V., Xiong, L., & Zhu, J.K. (2004). Use of genetic engineering and molecular biology approaches for crop improvement for stress environments, In: Abiotic stress: Plant resistance through breeding and molecular approaches (eds). *Food Products Press*, *264*, 47-107.
7. Colom, M.R., & Vazzana, C. (2003). Photosynthesis and PSII functionality of drought resistant and drought sensitive weeping lovegrass plants. *Environmental and Experimental Botany*, *49*(2), 135-144. http://doi.org/10.1016/S0098-8472(02)00065-5
8. Cornic, G., & Massaci, A. (1996). *Leaf photosynthesis under drought stress*. In Photosynthesis and the Environment, Ed. R. Barker. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands pp. 347-366.
9. Eshghi Zadeh, H., Kafi, M., Nezami, A., & Khosh Goftarmanesh, A. (2014). Effect of salinity on leaf water status, proline and total soluble sugar concentrations and activity of antioxidant enzymes in blue panic grass. *Journal of Science and Techniques of Greenhouse Cultivation*, *5*(2), 11-25. (In Persian with English abstract). http://doi.org/20.1001.1.20089082.1393.5.2.2.6
10. Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., & Basra, S.M.A. (2009). Plant drought stress, effects, mechanisms and management. *Sustainable Agriculture*, *29*(1), 185-212. http://doi.org/10.1051/agro:2008021
11. Farquhar, G.D., & Richards, R.A. (1984). Isotopic composition of plant carbon correlates with water use efficiency of wheat genotypes. *Australian Journal of Plant Physiology*, *11*(6), 539-552. http://doi.org/10.1071/PP9840539
12. Flexas, J.A., & Medrano, H. (2002). Drought inhibition of photosynthesis in C3 plants: Stomatal and nonstomatal limitation revisited. *Annals of Botany*, *89*, 183-189. http://doi.org/10.1093/aob/mcf027
13. Flexas, J.A., Diaz-Espejo, J., Galmes, R., Kaldenhoff, H., Medrano, A., & Ribas-Carbo, M. (2007). Rapid variations of mesophyll conductance in response to changes in CO_2 concentration around leaves. *Plant Cell and Environment*, *30*(10), 1284-1298. http://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2007.01700.x
14. Heydariyan, N., Barzegar, T., Ghahremani, Z., & Nikbakht, J. (2018). The effect of drought stress on the yield and physiological and biochemical indicators of some native Iranian melon stands. *Journal of Plant Process and Function*, *7*(26), 209-222. (In Persian with English abstract). http://doi.org/20.1001.1.23222727.1397.7.26.17.6
15. Hosseinzadeh, S.R., Cheniany, M., & Salimi, A. (2014). Effects of foliar application of methanol on physiological characteristics of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under drought stress. *Iranian Journal of Pulses Research*, *5*(2), 71-82. (In Persian with English abstract). http://doi.org/10.22067/ijpr.v1393i2.47031
16. Hosseinzadeh, S.R., Amiri, H., & Ismaili, A. (2016). Effect of vermicompost fertilizer on photosynthetic characteristics of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under drought stress. *Journal of Photosynthetica*, *54*(1), 87-92. http://doi.org/10.1007/s11099-015-0162-x
17. Kuchaki, A., Soltani, A., Sharifi, H., & Kamali, Gh. (2001). The effects of climate change on the characteristics of growth, development and performance of sunflower and chickpea in the conditions of Tabriz. *Journal of Agricultural Sciences and Industries*, *15*(1), 155-164. (In Persian)
18. Li, R.H., Guo, P.G., Michael, B., Stefania, G., & Salvatore, C. (2006). Evaluation of chlorophyll content and fluorescence parameters as indicators of drought tolerance in barley. *Agriculture Science China*, *5*(10), 751-757. http://doi.org/10.1016/S1671-2927(06)60120-X
19. Lotfi, H., Barzegar, T., & Nekoonam, F. (2017). Effect of water deficit stress on some physiological traits and water use efficiency of some Iranian melon landraces. *Iranian Journal of Horticultural Sciences*, *47*(4), 763-772. (In Persian with English abstract)
20. Morgan, J.M., Hare, R.A., & Fletcher, R.A. (1993). Genetic variation Genotypic variation of osmotic adjustment and desiccation toler in osmoregulation in bred and durum wheats and its relationship ance in contrasting sorghum inbred lines. *Field Crop Researches*, *35*(1), 51-62. http://doi.org/10.1016/0378-4290(93)90136-B
21. Parkhideh, J., Barzegar, T., & Nekonam, F. (2018). Growth, yield and physiological responses of watermelon cv. Charleston Gray grafted on bitter apple (*Citrullus colocynthis* L.) rootstock under deficit irrigation stress. *Iranian Journal of Horticultural Sciences*, *49*(2), 539-550. (In Persian with English abstract). http://doi.org/10.22059/ijhs.2017.233823.1258
22. Ritchie, S.W., Nguyen, H.T., & Haloday, A.S. (1990). Leaf water content and gas exchange parameters of two wheat genotype differing in drought resistance. *Journal of Crop Science*, *30*(1), 105-111. http://doi.org/10.2135/cropsci1990.0011183X003000010025x
23. Rohi, E., & Siosemardeh, A. (2008). Study on gas exchange in different wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes under moisture stress conditions. *Journal of Plant and Seed*, *23*(1), 45-62. (In Persian)
24. Sairam, R.K., Rao, K.V., & Srivastava, G.C. (2002). Differential response of wheat genotypes to longterm salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. *Journal of Plant Science*, *163*(5), 1037-1046. http://doi.org/10.1016/S0168-9452(02)00278-9
25. Sajjadinia, A., Ershadi, A., Hokmabadi, H., Khayyat, M., & Gholami, M. (2010). Gas exchange activities and relative water content at different fruit growth and developmental stages of on and off cultivated pistachio trees. *American Journal of Agricultural Economics*, *1*(1), 1-6.

26. Sanchez-Rodrıguez, E., Rubio-Wilhelmi, M., Cervilla, L.M., Blasco, B., Rios, J.J., Rosales, M.A., Romero, L., & Ruiz, J.M. (2010). Genotypic differences in some physiological parameters symptomatic for oxidative stress under moderate drought in tomato plants. *Journal of Plant Science, 178*(1), 30-40. http://doi.org/10.1016/j.plantsci.2009.10.001
27. Shafiee, H., Haghighi, M., Farhadi, A., & Ehtemam, M.H. (2019). The effect of salinity on physiological, biochemical and anatomical characteristics of different varieties of melon. *Journal of Plant Process and Function, 8*(33), 325-338. (In Persian with English abstract). http://doi.org/20.1001.1.23222727.1398.8.33.12.2
28. Shao, H., Chu, L., Jaleel, C., & Zhao, C. (2008). Water deficit stress induced anatomical changes in higher plants. *Comptes Rendus Biologies, 331*(3), 215-225. http://doi.org/10.1016/j.crvi.2008.01.002
29. Siosemardeh, A., Ahmadi, A., & Poustini, K. (2005). Stomatal and non-stomatal factors controlling photosynthesis and its relation to drought resistance in wheat cultivars. *Iranian Journal of Agricultural Science*, 35, 93-106. (In Persian)
30. Soltani, F., Shajari, M., & Noory, H. (2018). Evaluation of growth, yield, and water use efficiency and evaporation transpiration of some watermelon accessions at drought stress conditions under different irrigation regimes. *Iranian Journal of Horticultural Sciences, 49*(2), 351-363. (In Persian with English abstract). http://doi.org/10.22059/ijhs.2017.207658.1020
31. Taghadosinia, F., Ghahremani, Z., Barzegar, T., & Aelaei, M. (2020). Effect of deficit irrigation at different growth stages of two Iranian melon accessions on growth, yield, fruit quality and water use efficiency. *Iranian Journal of Horticultural Sciences, 51*(2), 503-515. (In Persian with English abstract). http://doi.org/10.22059/ijhs.2019.272138.1567
32. Taize, L., & Zaiger, E. (2007). *ABA and drought adaptation*. Chapter 25. pp: 671-682.
33. Thomas, H. (1997). *Drought resistance in plants in mechanisms of environmental stress resistance in plant*. (Eds As Basra, RK Basra). pp: 1-42.
34. Turner, N.C., & Jones, M.M. (1980). *Turgor maintenance by osmotic adjustment: a review and evaluation, In: Adaptation of plants to water and high temperature stress*. New York: Wiley. pp: 87-103.
35. Turner, N.C., Toole, J.C.O., Cruz, R.T., Yambao, E.B., Ahmad, S., Namuco, O.S., & Dingkuhn, M. (1986). Responses of seven diverse rice cultivars to water deficit II Osmotic adjustment, leaf elasticity, leaf extension, leaf death, stomatal conductance and photosynthesis. *Journal of Field Crop Researches, 13*, 273-286.
36. Zeinali, N., Haghbeen, K., & Delshad, M. (2016). Water deficit effects on some physiological characteristics, sugars and proline as osmolytes in *Cucumis melo* Group. cantaloupensis cv. Samsoury. *Journal of Plant Process and Function, 5*(16), 105-116. (In Persian with English abstract). http://doi.org/20.1001.1.23222727.1395.5.16.3.8
37. Zeinali, N., Delshad, M., Kashi, A., & Haghbeen, K. (2012). The effect of water stress on the yield and some quality characteristics of three genotypes of Dastanbo and cantaloupe in Iran. *Iranian Journal of Horticaltural Sciences, 43*(4), 403-410. (In Persian). http://doi.org/10.22059/ijhs.2012.29375

Contents

Biochemical Properties of Twelve Indigenous Barberry (*Berberis* spp.) Genotypes 293
A. Balandari, M. Azizi, M. Khodabandeh

A Study on Effects of Chemical Fertilizer and Organic Manures on Kiwifruit (*Actinidia deliciosa*, cv. Hayward) Quality during Cold Storage 307
M. Kiaeshkevarian, T. Raiesi, B. Moradi, J. Fattahi Moghadam- M. Faghih Nasiri

Effect of Some Inorganic and Organic Fertilizers' Application and Drought Stress on Superoxide Dismutase and Peroxidase Activities and Total Soluble Protein of Bidane-Ghermez Grapevines 325
A. Fatemi- A. Safari- M. Saiedi- Z. Kolahchi

Effectiveness of Acid Gibberellic and Magnetic Field on Shelf Life and Post-Harvest Life of Strawberry cv. Selva under Temperature Stress Conditions 337
M.R. Zandi, A.H. Aboutalebi Jahromi, B. Behroznam, A.R. Zakerin

Investigating the Effect of Foliar Applied Proline on the Photosynthetic Pigments Content and Osmolytes of Pistachio Rootstock UCB1 under Water Stress Conditions 351
M. Fattahi- A. Mohammadkhani

Study of Agronomic Traits, Yield Performance and Economical Indices in Intercropping of Spinach with Chickpea 363
J. Hamzei, M. Khishvand

Improving the Antioxidant Activities of Sweet Basil (*Ocimum basilicum* L.) under the Influence of Different Species of Mycorrhiza under Water Stress 377
M. Amani, M. Sabzi-Nojadeh, S. Alizadeh-Salteh, M. Younessi-Hamzekhanlu, B. Farmani, H. Hatef Heris, Sh. Mohammadian, S. Piretarighat

Eco-physiological, Biochemical and Herbicidal Characteristics of *Lavandula stricta*, *Cassia obovata*, *Cocculus pendulus* and *Solanum xanthocarpum* 391
H. Gholami, M.J. Saharkhiz, M. Shirdel, K. Sartavi, H. Mazareie

The Effect of Chalcone Isomerase Gene Silencing on Pigment Production Pathway in *Petunia hybrida* with RNAi Technology 409
F. Keykha Akhar, A.R. Bagheri, N. Moshtaghi, M. Fakhrfeshani

The Evaluation of Growth, Yield and Physiological Responses of African Horned Cucumber (*Cucumis metuliferus* L.) to Deficit Irrigation 423
M. Ghoreyshi, F. Nekounam, T. Barzegar, J. Nikbakht

Effect of Glycine Betaine Nanocomposite Coated with Chitosan and Moderate Salinity Stress on *In vitro* Microtuberization of Potato (*Solanum tuberosum* L.) cv. Agria 437
S. Mahmodi Soreh, A. Motallebi Azar, J. Panahandeh, G. Gohari, A. Jahanian

The Effect of Mycorrhizal Fungus (*Piriformospora indica*) on the Morphological, Physiological and Biochemical Traits of the Medicinal Plant Stevia (*Stevia rebaudiana*) under Drought Stress 453
E. Nabizadeh, M. Haghshenas, K. Ahmadi

Effect of Winter Foliar Application of Urea on Changes in Leaf and Node Polyamines, Yield and Some Characteristics of Reproductive of Kinnow Mandarin Trees 467
F. Karamnezhad, N. Moallemi, E. Khaleghi

Effect of the Wild Eggplant Rootstock (*Solanum torvum*) on the Drought Tolerance of Tomato Based on the Growth Indecies and Physiological Parameters 481
D. Akhgar, H.R. Karimi, S.R. Sahhafi, S.H. Mirdehghan

The Effect of Ascorbic Acid on Growth and Some Biochemical Properties of Bell Pepper (*Capsicum annuum*) Seedling under Salinity Stress 497
S. Parsajoo, F. Dashti

Investigating Nano-Titanium Dioxide on the Morphological and Biochemical Characteristics of Some Strawberry Cultivars under Hydroponic Cultivation Conditions 509
F. Javan, Y. Selahvarzi, M. Kamali

Investigation the Different Levels of Drought Stress on Almond Cultivars 523
E. Safavi, M. Yadegari, S.A. Mousavi, B. Haghighati

Evaluation of Humic Acid on Chromium Toxicity, Accumulation and Translocation in Lettuce (*Lactuca sativa* L. var. *longifolia*) 541
A. Omidi, A.R. Astaraei, H. Emami

The Effect of Melatonin on Some Physiological and Morphological Characteristics of *Coriandrum sativum* L. and *Anethum graveolens* L. under Salt Stress 561
M. Cheraghi, A.A. Hatamnia, F. Ghanbari
Study the Changes of Some Water Relations and Net Photosynthesis of Three Iranian Melon Population (*Cucumis melo*) under Water Deficit Stress 577
N. Zeinali Pour, F. Aghebati

HORTICULTURAL SCIENCES

(AGRICULTURAL SCIENCES AND TECHNOLOGY)

Vol. 37 No. 2 2023

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:

Arouiee, H.	Horticultural Sciences	Asso.Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
Tavakkol Afshari, R.	Seed Physiology	Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
Tehranifar,A.	Horticultural Sciences	Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
Shoor, M.	Horticultural Sciences	Asso. Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
Haghighi, M.	Horticultural Sciences	Asso. Prof. Isfahan University of Technology.
Hassanzadeh Mobini , S	Phytotron Facility Manager	Department of Biology, Faculty of Arts and Science, Queen's University ‹Kingston, Canada
Khanizadeh,SH.	Research Scientist	Bioproducts and Bioprocesses, Agriculture and Agri-Food Canada.
Khazaei, H	Plant Breeding	Plant Breeding, AVRDC - The World Vegetable Center.
Davarynejad, GH.	Horticultural Sciences	Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
M. Rahemi	Horticultural Sciences	Prof. Shiraz University.
Zamani, Z.	Horticultural Sciences	Prof. University of Tehran, Iran.
Sharifani, M.M.	Horticultural Sciences	Asso.Prof. Gorgan University of Agricultural Science & Natural Resources.
Azizi, M.	Medicinal Plants	Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
Ebadi,A.	Horticultural Sciences	Prof .Tehran University.
Fallahi,E.	Horticultural Sciences	Department of Plant Sciences, University of Idaho.
Farsi, M.	Plant Breeding and Genetics	Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
Kafi, M.	Floriculture and landscaping	Prof .Tehran University.
Lahouti, M.	Plant Physiology	Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
Fujii, Y.		Tokyo University of Agriculture and Technology, International Environmental and Agricultural Sciences

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