



نشریه علمی علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)



جلد ۳۸ شماره ۴
سال ۱۴۰۳

شاپا: ۴۷۳۰-۲۰۰۸

شماره پیاپی: ۶۴

عنوان مقالات

- ۶۳۹ بررسی تغییرات میزان اسانس و خواص بیوشیمیایی گیاه کاکوتی (*Ziziphora clinopodioides* Lam.) تحت تأثیر محلول پاشی اسیددیسالسیبیلک
سمیه صادقی فرد- مجید عزیزی- سارا کریمی زینکاتلو
- ۶۴۱ اثر محلول پاشی کلسیم کلرید و اسیدآسکوربیک و زمان برداشت بر صفات کیفی میوه گوجه فرنگی (*Solanum lycopersicum* cv. SV8320TD)
زهرا خلیلی- فاطمه نکونام- طاهر برزگر- زهرا قهرمانی- ملیحه فرهنگ پور
- ۶۵۷ اثر تنک شیمیایی و دستی بر خصوصیات بیوشیمیایی میوه خرمای (*Phoenix dactylifera* L.) رقم 'خضراوی' در طی نمو میوه
منصور جلالی- توراله معلمی- اسمعیل خالقی- شهره زیودار- مصطفی رحمتی جندآباد
- ۶۷۷ پاسخ‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی گیاه نعنا فلفلی (*Mentha piperita* L.) به تنش فلزات سنگین در محیط‌های شهری
کبوان پورحسین- بهرام عابدی- محمود شور
- ۶۹۵ اثر محلول پاشی عصاره جلبک دریایی بر صفات مورفوفیزیولوژیک نشاء گل‌گاوزبان ایرانی (*Echium amoenum* Fisch. & Mey)
در شرایط تنش شوری
بهروز رحیم خانی- محبوبه ناصری- احمد احمدیان- مسعود علی پناه
- ۷۰۷ ارزیابی خصوصیات مهم رویشی، فنولوژی و میوه‌شناختی ۳۶ ژنوتیپ امیدبخش بادام (*Prunus dulcis* L.) روی پایه رویشی GN۱۵
سید اصغر موسوی- اکرم وطن خواه- علی ایمانی
- ۷۳۹ بررسی رشد و عملکرد تره ایرانی (*Allium ampeloprasum* subsp. *Persicum*) در پاسخ به محلول پاشی نانوذرات مس تحت تنش شوری
فرهاد شاکرمی- صادق موسوی فرد- عبدالحسین رضایی نژاد- فرهاد پیرانوند
- ۷۴۷ بررسی اثر غلظت‌های مختلف محیط کشت موراشیک و اسکوگ (MS) و ساکارز در تولید ریزغده سبب‌زینی (*Solanum tuberosum* L.)
در شرایط درون شیشه‌ای
فهیمه یارمحمدی- علیرضا مطلبی- آذر- سمانه کاظمیانی- مینا امانی
- ۷۶۵ تأثیر تیمار سایتوکنین روی برخی از صفات ریخت‌شناختی و فیتوشیمیایی پیوندک بهاره 'تاراکو' روی پایه 'سیتروملو'
سید محمود غلامی- مهدی حدادی نژاد- حسین مرادی- حسین صادقی
- ۷۷۹ ارزیابی شاخص‌های ریخت‌شناختی و فیزیولوژیکی نرگس‌های (*Narcissus tazetta*) بومی ایران در اقلیم معتدل
سحر میرزایی- مهرانگیز چهارازی

نشریه علوم باغبانی

(علوم و صنایع کشاورزی)

26524

21/2015

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

جلد 38 شماره 4 زمستان 1403

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
سرمدیر: علی تهرانی فر
اعضای هیئت تحریریه:

استاد - تغذیه نشخوارکنندگان (دانشگاه فردوسی مشهد)
استاد - علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز (دانشگاه فردوسی مشهد)
دانشیار - علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز (دانشگاه فردوسی مشهد)
دانشیار - علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز (دانشگاه فردوسی مشهد)
استاد - علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز (دانشگاه فردوسی مشهد)
دانشیار - علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز (دانشگاه فردوسی مشهد)
دانشیار - علوم باغبانی (دانشگاه صنعتی اصفهان)
استاد - بخش بیولوژی (دانشگاه کوبین کانادا)
پژوهشگر - موسسه کشاورزی و غذا اوتاوا کانادا
پژوهشگر مرکز جهانی اصلاح و تولید بذر سبزی تایوان
استاد - علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز (دانشگاه فردوسی مشهد)
استاد - علوم باغبانی (دانشگاه شیراز)
استاد - علوم باغبانی (دانشگاه تهران)
دانشیار - علوم باغبانی (دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان)
استاد - گیاهان دارویی (دانشگاه فردوسی مشهد)
استاد - علوم باغبانی (دانشگاه تهران)
استاد - گروه علوم باغبانی دانشگاه آیداهوی آمریکا
استاد - ژنتیک و اصلاح نباتات (دانشگاه فردوسی مشهد)
استاد - گلکاری و مهندسی فضای سبز (دانشگاه تهران)
استاد - فیزیولوژی گیاهی (دانشگاه فردوسی مشهد)
استاد - دانشگاه کشاورزی و فناوری توکیو ژاپن

آرویی، حسین
عابدی، بهرام
تهرانی فر، علی
شور، محمود
حقیقی، مریم
حسن زاده مبینی، سعید
خانی زاده، شاهرخ
خرزاعی، حمید
داوری نژاد، غلامحسین
راحی، مجید
زمانی، ذبیح اله
شریفانی، محمد مهدی
عزیزی، مجید
عبادی، علی
فلاحی، اسماعیل
فارسی، محمد
کافی، محسن
لاهوئی، مهرداد
فوجی، یوشی هارو
ناشر: دانشگاه فردوسی مشهد

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

پست الکترونیکی: Jhorts4@um.ac.ir

مقالات این شماره در سایت <https://jhs.um.ac.ir> به صورت مقاله کامل نمایه شده است .
این نشریه به صورت فصلنامه (4 شماره در سال) چاپ و منتشر می شود.

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

مندرجات

- 629 بررسی تغییرات میزان اسانس و خواص بیوشیمیایی گیاه کاکوتی (*Ziziphora clinopodioides* Lam.) تحت تأثیر محلول پاشی اسیدسالیسیلیک
سمیه صادقی فرد - مجید عزیزی - سارا کریمی زینکانلو
- 641 اثر محلول پاشی کلسیم کلرید و اسیدآسکوربیک و زمان برداشت بر صفات کیفی میوه گوجه فرنگی (*Solanum lycopersicum* cv. (SV8320TD
زهرا خلیلی - فاطمه نکونام - طاهر برزگر - زهرا قهرمانی - ملیحه فرهنگ پور
- 657 اثر تنک شیمیایی و دستی بر خصوصیات بیوشیمیایی میوه خرما (*Phoenix dactylifera* L.) رقم 'خضراوی' در طی نمو میوه
منصور جلالی - نوراله معلمی - اسمعیل خالقی - شهره زیودار - مصطفی رحمتی جنیدآباد
- 677 پاسخ های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی گیاه نعنا فلفلی (*Mentha piperita* L.) به تنش فلزات سنگین در محیط های شهری
کیوان پورحسین - بهرام عابدی - محمود شور
- 695 اثر محلول پاشی عصاره جلبک دریایی بر صفات مورفوفیزیولوژیک نشاء گل گاوزبان ایرانی (*Echium amoenum* Fisch. & Mey)
در شرایط تنش شوری
بهروز رحیم خانی - محبوبه ناصری - احمد احمدیان - مسعود علی پناه
- 707 ارزیابی خصوصیات مهم رویشی، فنولوژی و میوه شناختی 36 ژنوتیپ امیدبخش بادام (*Prunus dulcis* L) روی پایه رویشی GN15
سید اصغر موسوی - اکرم وطن خواه - علی ایمانی
- 729 بررسی رشد و عملکرد تره ایرانی (*Allium ampeloprasum* subsp. *Persicum*) در پاسخ به محلول پاشی نانوذرات مس تحت تنش شوری
فرهاد شاکرمی - صادق موسوی فرد - عبدالحسین رضایی نژاد - فرهاد بیرانوند
- 747 بررسی اثر غلظت های مختلف محیط کشت موراشیک و اسکوگ (MS) و ساکارز در تولید ریزغده سیب زمینی (*Solanum tuberosum* L.) در شرایط درون شیشه ای
فهیمه یارمحمدی - علیرضا مطلبی آذر - سمانه کاظمیانی - مینا امانی
- 765 تأثیر تیمار سایتوکنین روی برخی از صفات ریخت شناختی و فیتوشیمیایی پیوندک بهاره 'تارا کو' روی پایه 'سیتروملو'
سید محمود غلامی - مهدی حدادی نژاد - حسین مرادی - حسین صادقی
- 779 ارزیابی شاخص های ریخت شناختی و فیزیولوژیکی نرگس های (*Narcissus tazetta*) بومی ایران در اقلیم معتدل
سحر میرزایی - مهرانگیز چهارازی

Research Article

Vol. 38, No. 4, Winter 2024, p. 627-637

Study of Essential Oils Changes and some Biochemical Properties of *Ziziphora clinopodioides* Lam. under Application of Salicylic Acid

S. Sadeqifard¹, M. Azizi^{2*}, S. Karimi Zinkanlu³

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

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

3- M.Sc. Graduated, Department of Horticultural Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

Received: 17-10-2016
Revised: 18-06-2017
Accepted: 03-10-2017
Available Online: 03-10-2017

How to cite this article:

Sadeqifard, S., Azizi, M., & Karimi Zinkanlu, S. (2024). Study of essential oils changes and some biochemical properties of *Ziziphora clinopodioides* Lam. under application of salicylic acid. *Journal of Horticultural Science*, 38(4), 627-637. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22067/jhs.2021.59045.0>

Introduction

Growth regulators play a vital role in developmental stages of plants and their use can be improved the yield of crops. One of the most important compounds that used as growth regulators in recent years is salicylic acid. The application of salicylic acid in the activation of systemic acquired resistance, and metabolite synthesis and antioxidant enzymes has been proved. Also, salicylic acid as a natural compound has potential to prevent ethylene production and its effect. In order to evaluate the effect of salicylic acid in different concentration on yield and oils content of *Ziziphora*, a split plot experiment with three replications during 2014-2015 in the field of Agricultural Faculty of Shirvan and Ferdowsi University of Mashhad laboratories was conducted.

Materials and Methods

This research was conducted during 2014-2015 under field conditions in a split plot design in time, at Shirvan Agricultural Research Station (latitude 40 ° / 37, longitude 93 ° / 57 and with a height of 1097 m above sea level) and in laboratory Department of Horticultural Sciences, Ferdowsi University of Mashhad. Each plot had an area of 4 square meters in furrow planting way which the distance between rows were 50 cm and on rows 15 cm and were carried out on 25 March 2014. Irrigation was carried out immediately after planting, and a second irrigation was done 20 days later, once the seeds had germinated. Irrigation and weed control are also done manually once a week. Salicylic acid (Sigma Aldrich, 99.5%) in the three phases of plant growth (The onset of vegetative growth, throughout vegetative growth, and at the flowering stage), at concentrations (0, 10⁻², 10⁻⁴ and 10⁻⁶ M) in three repeats were sprayed. The first spraying (The onset of vegetative growth) was done on April 3, 2014, the second spraying (throughout vegetative growth) on May 4, and the third (at the flowering stage) in early June 2014. The plants were harvested on July 20. To measure the dry weight of the plants, the samples were dried in the shade for a week. Essential oil content was determined using a 30-gram dry sample in 500 ml of water through hydro-distillation with a Clevenger apparatus for 4 hours. For biochemical characteristics first samples extract were obtained. To prepare extracts, dry samples were milled then one gram of each sample was transferred to the 50 ml Erlen and 10 ml of 80% methanol was added and shaken for 24 hours. After 24 hours the extract was filtered using filter paper then used for measuring phenols, flavonoids and antioxidant activity. Phenol measurement: phenolic content was measured using the Folin reagent. In 5.0 mL of each extract (10 milligrams per ml) 5.2 ml Folin reagent was added. After five minutes, 300 ml of a molar sodium carbonate solution is added and maintained in a 40 °C bath for 30 minutes. The sample absorbance at 760 nm was measured by a spectrophotometer against the blank. Gallic acid was used as the standard for calibration curve. Flavonoids measurement: Flavonoid content of the samples were measured using aluminum chloride reagent. In 5.0 ml of methanol extract (10 milligrams per ml), 5.1 ml of



©2017 The author(s). This is an open access article distributed under [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

<https://doi.org/10.22067/jhs.2021.59045.0>

methanol, 1.0 ml of 10% aluminum chloride, 1.0 ml of a molar potassium acetate and 8.2 ml of distilled water was added. The mixture kept in dark for 30 minutes and absorbance at a wavelength of 415 nm was read against the blank. Quercetin was used as the standard for calibration curve evaluation. JMP statistical software was used to analyze the data.

Results and Discussion

Based on the results, the application of salicylic acid significantly affected fresh and dry weight, plant height, and phenol and flavonoid content ($P < 0.01$), but had no significant effect on essential oil percentage or yield. The highest fresh weight (264.763 grams per square meter) and dry weight (93.11 grams per square meter) were obtained with the application of 10^{-2} molar salicylic acid during vegetative growth, while the lowest fresh and dry herb yields were observed in the control group. Maximum height of plants (29.01 cm) was related to 10^{-2} M salicylic acid during vegetative growth and the lowest of plant height (23/24 cm) was related to control treatment at the time of flowering. The highest amount of phenols (0.504 mg equivalents gallic acid per gram of dry weight) was detected in plants treated with 10^{-2} M salicylic acid during vegetative growth and the lowest phenols (0.248 mg equivalents gallic acid per gram of dry weight) was reported in 10^{-2} M salicylic acid and during vegetative growth. The highest amount of flavonoids (0.31 mg equivalent Quercetin per gram of dry weight) was obtained in 10^{-4} M salicylic acid treatments during vegetative growth and the lowest of them (0.176 mg equivalent Quercetin per gram of dry weight) was in 10^{-6} M salicylic acid treatment at the beginning of vegetative growth.

Conclusions

In conclusion the results showed that the highest amount of fresh and dry weight and plant height was under the conditions of 10^{-2} M salicylic acid concentration and during vegetative growth and the best yield of essential oils, phenols and flavonoids in during vegetative growth and 10^{-4} M salicylic acid concentration was obtained.

Keywords: Essential oil, Growth regulator, Secondary metabolites

مقاله پژوهشی

جلد ۳۸، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۳، ص. ۶۳۷-۶۲۷

بررسی تغییرات میزان اسانس و خواص بیوشیمیایی گیاه کاکوتی (*Ziziphora clinopodioides* Lam.) تحت تأثیر محلول پاشی اسیدسالیسیلیک

سمیه صادقی فرد^۱id - مجید عزیزی^۲id* - سارا کریمی زینکانلو^۳id

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۷/۲۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۷/۱۱

چکیده

تنظیم‌کننده‌های رشد، نقش حیاتی در طی مراحل رشدونموی گیاهان ایفا می‌کنند و کاربرد آن‌ها می‌تواند باعث بهبود و افزایش عملکرد گیاهان شوند. یکی از مهم‌ترین این ترکیبات اسیدسالیسیلیک می‌باشد که به‌منظور بررسی اثر محلول پاشی اسیدسالیسیلیک در مقادیر مختلف، بر عملکرد و متابولیت‌های ثانویه کاکوتی (*Ziziphora clinopodioides*)، آزمایشی به‌صورت کرت‌های خرد شده در زمان با سه تکرار در سال زراعی ۱۳۹۳-۹۴ در مزرعه دانشکده کشاورزی شیروان و آزمایشگاه دانشجویی مشهد به اجرا درآمد. فاکتورهای آزمایشی شامل زمان‌های مختلف محلول پاشی اسیدسالیسیلیک (در سه زمان: آغاز رشد رویشی، در حین رشد رویشی و در زمان گل‌دهی) به‌عنوان فاکتور اصلی و غلظت‌های مختلف اسیدسالیسیلیک (در چهار سطح 10^{-2} ، 10^{-4} و 10^{-6} مولار و صفر (شاهد)) به‌عنوان فاکتور فرعی بودند. صفات مورد بررسی در این آزمایش شامل وزن تر و خشک، ارتفاع بوته، درصد و عملکرد اسانس، میزان ترکیبات فنل کل و فلاونوئیدها بودند. اثر متقابل اسیدسالیسیلیک $\times$ زمان محلول پاشی بر وزن تر و خشک، ارتفاع بوته، میزان فنل کل و فلاونوئیدهای کل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. نتایج نشان داد که بیشترین وزن تر ($264/7$ گرم بر مترمربع) و خشک ($93/1$ گرم بر مترمربع) در تیمار 10^{-2} مولار اسیدسالیسیلیک در زمان محلول پاشی در حین رشد رویشی و کمترین مقدار آن در شاهد در زمان گل‌دهی به‌دست آمد. بیشترین ارتفاع بوته (29 سانتی متر) مربوط به تیمار 10^{-2} مولار اسیدسالیسیلیک و در حین رشد رویشی و کمترین مقدار آن ($23/2$ سانتی متر) مربوط به شاهد در زمان گل‌دهی بود. بیشترین میزان ترکیبات فنل کل ($0/5$ میلی گرم معادل اسیدگالیک در گرم وزن خشک) در تیمار 10^{-2} مولار اسیدسالیسیلیک در آغاز رشد رویشی و کمترین مقدار آن ($0/24$ میلی گرم معادل اسیدگالیک در گرم وزن خشک) در تیمار 10^{-2} مولار اسیدسالیسیلیک در زمان گل‌دهی مشاهده شد. بیشترین میزان فلاونوئید ($0/31$ میلی گرم معادل کوئرستین در گرم وزن خشک) را تیمار 10^{-4} مولار اسیدسالیسیلیک در حین رشد رویشی و کمترین میزان ($0/17$ میلی گرم معادل کوئرستین در گرم وزن خشک) را تیمار 10^{-6} مولار اسیدسالیسیلیک در آغاز رشد رویشی به خود اختصاص دادند. بیشترین درصد اسانس ($1/66$ درصد) مربوط به غلظت 10^{-2} مولار و در زمان گل‌دهی و کمترین میزان آن ($0/33$ درصد) مربوط به شاهد (صفر) و در حین رشد رویشی بود. همچنین نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بالاترین عملکرد اسانس ($1/142$ میلی گرم در مترمربع) در حین رشد رویشی و در غلظت 10^{-2} مولار اسیدسالیسیلیک و کمترین میزان آن ($0/221$ میلی گرم در مترمربع) در زمان گل‌دهی و در شاهد مشاهده گردید. در مجموع، می‌توان اظهار نمود که به‌منظور دستیابی به بالاترین میزان عملکرد اسانس، میزان فنل کل و فلاونوئید کل، محلول پاشی غلظت اسیدسالیسیلیک 10^{-2} مولار در حین رشد رویشی مناسب‌تر می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: اسانس، تنظیم‌کننده رشد، متابولیت‌های ثانویه

مقدمه

گیاه دارویی و معطر کاکوتی با نام علمی (*Ziziphora clinopodioides* Lam.) متعلق به تیره نعنائیان است (Naghbi et al., 2005). گیاهی چندساله با قاعده چوبی، به ارتفاع هفت تا ۵۰ سانتی متر است. برگ‌ها بدون دم‌برگ، خطی و سرنیزه‌ای هستند.

۱ و ۲- به‌ترتیب دانشجوی دکتری و استاد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی، مشهد، ایران
۳- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
(*)- نویسنده مسئول: (Email: azizi@um.ac.ir)

متشکل از گل‌های متعدد بدون دم‌گل، به رنگ سبز یا بنفش، جام گل سفید، صورتی تا بنفش، میوه فندقه و به رنگ قهوه‌ای می‌باشد. گیاهان تیره نناع در مواجهه امراض معده و به‌عنوان ضدعفونی‌کننده برای رفع سرماخوردگی به کار می‌رود (Babakhanloo, 1998). اجزاء کاکوتی کوهی فعالیت آنتی‌توموری دارد (Chachoyan & Oganasyan, 1996) و می‌توان از آن در درمان تب، دردهای قاعدگی و تونوس معده استفاده کرد. نتایج تحقیقات صالحي و همکاران (Salehi et al., 2005) روی شناسایی ترکیبات اسانس کاکوتی نشان داد که از ۹۹/۵ درصد ترکیبات شناسایی شده اسانس این گیاه، ۹۳/۳ درصد آن مونوترپن‌های اکسیژنه از جمله پولگون (۴۸/۵ درصد)، پیپریتون (۱۷/۴ درصد)، پی منت-۳-ان-۸-ال (۱۲/۵ درصد) و تیمول (هشت درصد) می‌باشد (Salehi et al., 2005). ترکیب اصلی و غالب اسانس کاکوتی همانند سایر گونه‌های این جنس، پولگون است (Pastirová et al., 2004).

اسیدسالیسیلیک یا اورتو هیدروکسی بنزوئیک اسید، یک ترکیب فنولی طبیعی با حلقه آروماتیک و یک گروه هیدروکسیل است و به‌عنوان یک القاء‌کننده مؤثر در بیان ژن‌های مقاوم شناخته شده است که پس از افزودن به سطح بیرونی بسیاری از گیاهان، پروتئین‌های مربوط به تنش را به رمز در می‌آورد (Kumar et al., 1997). اسیدسالیسیلیک به‌عنوان یک شبه‌هورمون فنولیک تنظیمات درون گیاه را انجام می‌دهد و نقش آن در سیستم دفاعی در مقابل تنش‌های زیستی (عوامل بیماری‌زا) و غیر زیستی (عناصر سنگین، شوری، خشکی و ازن) به‌خوبی مشخص است (Mahdipour, 2013).

در سال ۱۸۲۸ یوهان باختر، موفق به جدا نمودن مقداری از سالیسیلین و گلوکوزید از سالیسیلین الکل گردید که سالیسیلات عمده در پوست درخت بید (*Salix alba*) به‌شمار می‌رفت و نام‌گذاری آن با توجه به نام لاتین درخت بید صورت گرفت (Jamzad, 2009). در سال‌های اخیر، مطالعات زیادی به‌منظور بررسی اثر اسیدسالیسیلیک بر میزان کمیت و کیفیت متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی انجام گرفته است و در بسیاری از پژوهش‌های انجام شده، اسیدسالیسیلیک به‌عنوان القاکننده ترکیبات ثانویه گیاهی معرفی گردیده است. وجود اسیدسالیسیلیک به‌عنوان یک ترکیب افزوده در محیط کشت، افزایش ترکیبات فنل کل را به همراه داشته است (Mozaffarian, 1998). کاربرد خارجی اسیدسالیسیلیک در دامنه‌ای از فرآورده‌های مختلف در گیاهان مانند جوانه‌زنی بذور (Kumar et al., 1997)، بسته شدن روزنه‌ها، تبادل و انتقال یون‌ها اثر داشته است. تیمار اسیدسالیسیلیک در گیاه ریحان (*Ocimum basilicum*)، افزایش در تعداد شاخ و برگ و افزایش گل‌های تولیدی را به همراه داشت (Gharib, 2007). در مطالعه‌ای روی تاج خروس قرمز (*Amaranthus retroflexus*) مشخص گردید که تیمار اسیدسالیسیلیک در غلظت بالا، افزایش ارتفاع گیاه، تعداد برگ، وزن تر و خشک گیاه و طول ریشه را به

همراه داشت (Kumar et al., 1997, Khavari-Nejad et al., 2006). نتایج تیمار اسیدسالیسیلیک روی صفات ریخت‌شناختی شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum*) حاکی از آن بود که در اکثر موارد کاربرد این ماده و افزودن به غلظت تا سطح سه (غلظت ۱۰^{-۴} مول) سبب افزایش در صفات رویشی و زایشی اندازه‌گیری شده گردید و کاربرد غلظت بالاتر اسیدسالیسیلیک (۱۰^{-۶} مول) اثر منفی بر میزان صفات و عملکرد داشت (Khavari-Nejad et al., 2006). محلول‌پاشی اسیدسالیسیلیک روی بخش‌های هوایی گیاهان ریحان و مرزنگوش باعث افزایش درصد و کیفیت اسانس شد (Gharib, 2007).

گزارش‌هایی از اثر اسیدسالیسیلیک بر افزایش عملکرد برخی گیاهان مانند سویا (*Glycine soja*) (Klessig & Malamy, 1994)، لوبیا چشم‌بلبلی (*Vigna unguiculata*) (Yue et al., 2009) و نخود فرنگی (*Pisum sativum*) (Pramod Kumar et al., 1999) منتشر شده است. مطالعات نشان داد که کاربرد اسیدسالیسیلیک اگزورژن (بیرونی)، باعث افزایش میزان محصول در ماش (*Vigna radiata*) (Khandaker et al., 2011) و افزایش مقاومت به عوامل بیماری‌زا در گیاهانی مانند توتون (*Nicotiana tabacum*) و تنباکو (*Nicotiana Rustica*) (Dong ShuTing et al., 1997) شد. همچنین نشان داده شد که تزریق اسیدسالیسیلیک در محیط آب کشت بابونه آلمانی (*Matricaria chamomilla*) منجر به تغییراتی در ترکیب‌های کومارینی برگ‌های این گیاه شد (Salehi et al., 2005). در پژوهشی، تیمار سالیسیلیک اسید در برگ‌های جو منجر به افزایش آنتی‌اکسیدانت‌ها شد (Ananieva et al., 2004).

با بررسی بیات و همکاران (Bayat et al., 2011) در خصوص تأثیر محلول‌پاشی اسیدسالیسیلیک بر خصوصیات مورفولوژیک و فیزیولوژیک دانه‌های خیار تحت تنش خشکی مشاهده شد که اسید سالیسیلیک، میزان سطح برگ و شاخص کلروفیل را به‌ترتیب ۶۰ و ۱۵ درصد افزایش داد (Bayat et al., 2011). قطر ساقه، ارتفاع بوته، تعداد برگ، وزن خشک شاخساره و ریشه و زیست‌توده با کاربرد اسیدسالیسیلیک نسبت به شاهد افزایش پیدا کرد.

آزمایش حاضر با هدف بررسی اثر مقادیر مختلف اسیدسالیسیلیک در زمان‌های مختلف محلول‌پاشی، بر برخی صفات کمی و کیفی گیاه کاکوتی طراحی شد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال زراعی ۹۴-۱۳۹۳ در شرایط مزرعه‌ای، به‌صورت کرت‌های خرد شده در زمان در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی شیروان (عرض جغرافیایی ۴۰/۳۷ درجه، طول جغرافیایی ۹۳/۵۷ درجه و با ارتفاع ۱۰۹۷ متر از سطح دریا) و در شرایط

اسپکتروفتومتر در مقابل بلانک قرائت شد. اسیدگالیک به عنوان استاندارد برای رسم منحنی کالیبراسیون به کار رفت.

اندازه‌گیری فلاونوئید: میزان فلاونوئید با استفاده از معرف آلومینیوم کلرید اندازه‌گیری شد. به ۰/۵ میلی‌لیتر از هر عصاره متانولی (۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)، ۱/۵ میلی‌لیتر متانول، ۰/۱ میلی‌لیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد، ۰/۱ میلی‌لیتر اسات پتاسیم یک مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. جذب مخلوط ۳۰ دقیقه بعد از نگهداری در تاریکی، در طول موج ۴۱۵ نانومتر در مقابل بلانک قرائت شد. کوئرسیتین به عنوان استاندارد برای رسم منحنی کالیبراسیون استفاده شد.

اندازه‌گیری آنتی‌اکسیدانت: برای اندازه‌گیری میزان مهار رادیکال‌های آزاد DPPH (دی فنیل پیکریل هیدرازیل)، ابتدا یک میلی‌لیتر از عصاره متانولی با یک میلی‌لیتر DPPH با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار مخلوط گردید. برای نمونه شاهد یک میلی‌لیتر متانول خالص به جای یک میلی‌لیتر عصاره متانولی قرار داده شد و برای بلانک از متانول خالص استفاده شد. بعد از ۳۰ دقیقه تاریکی، نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شدند. اعداد به دست آمده از جذب نمونه توسط معادله ۱ به درصد مهار رادیکال آزاد (RSA) تبدیل شد.

(۱)
$$\text{درصد مهار رادیکال آزاد} = \frac{(AC-AS)}{AC} \times 100$$
 که در آن، AC و AS: به ترتیب برابر با عدد جذب کنترل و نمونه می‌باشد. اعداد به دست آمده برابر با درصد مهار رادیکال‌های آزاد در عصاره متانولی (۰/۱ ppm) نمونه‌ها می‌باشد

آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد انجام شده و برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار آماری JMP استفاده گردید.

نتایج و بحث

عملکرد وزن تر و خشک

براساس نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس (جدول ۱)، وزن تر و خشک تحت تأثیر تیمار اسیدسالیسیلیک، زمان و اثر متقابل آن‌ها در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شدند. با توجه به شکل ۱، بیشترین وزن تر (۲۶۴/۷۶۳ گرم بر مترمربع) و خشک (۹۳/۱۱ گرم بر مترمربع) مربوط به غلظت ۱۰^{-۲} مولار اسیدسالیسیلیک در حین رشد رویشی و کمترین آن مربوط به نمونه شاهد در زمان گل‌دهی بود. گزارش شده است که اسیدسالیسیلیک از طریق افزایش فعالیت آنزیم روبیسکو و افزایش کلروفیل، میزان فتوسنتز کل را افزایش می‌دهد و در نتیجه، موجب افزایش وزن خشک گیاه می‌گردد (Singh & Kaur, 1980). وزن ۱۰۰ دانه یکی از ارکان اصلی در بالا بردن عملکرد گیاهان می‌باشد و می‌توان افزایش وزن ۱۰۰ دانه را به دلیل

آزمایشگاهی گروه علوم باغبانی دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. کاشت بذر گیاه کاکوتی (*Ziziphora clinopodioides* Lam.) به صورت جوی و پشته‌ای به فاصله روی ردیف ۱۵ و بین ردیف ۵۰ سانتی‌متر در تاریخ ۲۵ اسفند ماه ۱۳۹۳ در کرت‌هایی به ابعاد ۲ × ۲ متر انجام شد. بلافاصله پس از کاشت، آبیاری انجام شد و بعد از ۲۰ روز که بذرها به خوبی جوانه زدند، آبیاری دوم صورت گرفت. آبیاری در فواصل هفت روز و عملیات وجین علف‌های هرز نیز هفته‌ای یکبار به صورت دستی انجام شد. بذر این گیاه از مزرعه دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد تهیه گردید.

اسیدسالیسیلیک (Sigma Aldrich, 99.5%) در سه مرحله از رشد گیاه یک ساله (آغاز رشد رویشی، در حین رشد رویشی و در زمان گل‌دهی)، در غلظت‌های (صفر، ۱۰^{-۲}، ۱۰^{-۴} و ۱۰^{-۶} مولار) در سه تکرار محلول‌پاشی شد. اولین محلول‌پاشی (آغاز رشد رویشی یعنی در زمان دو یا سه‌برگی) در تاریخ ۱۵ فروردین ماه سال ۱۳۹۴، دومین محلول‌پاشی (در حین رشد رویشی یعنی اواسط رشد وقتی گیاه به ارتفاع ۱۰ یا ۱۵ سانتی‌متری رسید) در تاریخ ۱۵ اردیبهشت ماه سال ۱۳۹۴ و سومین محلول‌پاشی (در زمان گل‌دهی) در اول تیرماه سال ۱۳۹۴ انجام شد.

برداشت بوته‌ها در ۲۰ تیر ماه سال ۱۳۹۴ بدون فاصله از سطح زمین انجام شد. به منظور اندازه‌گیری وزن خشک، نمونه‌ها به مدت یک هفته در شرایط سایه قرار داده شدند. اسانس‌گیری با استفاده از دستگاه کلونجر و به روش تقطیر با آب، در شرایط کاملاً یکسان و به مدت چهار ساعت انجام شد. برای اسانس‌گیری ۳۰ گرم نمونه خشک در ۵۰۰ میلی‌لیتر آب استفاده گردید. پس از محاسبه درصد اسانس، عملکرد آن نیز در واحد مترمربع (گرم در مترمربع وزن خشک بوته)، از عملکرد وزن خشک اندام هوایی بوته در هر مترمربع تعیین گردید. جهت اندازه‌گیری صفات بیوشیمیایی، ابتدا از نمونه‌ها عصاره تهیه گردید. به منظور تهیه عصاره، ابتدا نمونه‌های خشک با آسیاب برقی به خوبی خرد و مقدار یک گرم از هر نمونه به ارلن ۵۰ میلی‌لیتری انتقال یافته و با متانول ۸۰ درصد به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس به مدت ۲۴ ساعت روی شیکر قرار گرفت. پس از ۲۴ ساعت، عصاره از کاغذ صافی عبور داده شد و از آن برای اندازه‌گیری میزان ترکیبات فنل کل، فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها استفاده شد.

اندازه‌گیری فنل کل: محتوای فنل با استفاده از معرف فولین سیوکالتیو اندازه‌گیری شد. به ۰/۵ میلی‌لیتر از هر عصاره (۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)، ۲/۵ میلی‌لیتر واکنشگر فولین سیوکالتیو اضافه شد. پس از پنج دقیقه، ۳۰۰ میکرولیتر سدیم کربنات یک مولار به محلول افزوده و به مدت ۳۰ دقیقه در حمام ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس جذب نمونه در طول موج ۷۶۰ نانومتر توسط دستگاه

درصد اسانس

براساس نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس، درصد اسانس تحت تأثیر اسیدسالیسیلیک، زمان و اثر متقابل این دو معنی‌دار نگردید. براساس نتایج جدول ۲، در بین غلظت‌های مختلف اسیدسالیسیلیک، بیشترین درصد اسانس (۱/۶۶ درصد) مربوط به غلظت 10^{-2} مولار و در زمان گل‌دهی و کمترین میزان آن (۰/۳۳ درصد) مربوط به شاهد (صفر) و در حین رشد رویشی بود. غریب (۲۰۰۶) در بررسی تأثیر اسیدسالیسیلیک بر دو گیاه دارویی ریحان و مرزنجوش نشان داد که کاربرد اسیدسالیسیلیک 10^{-4} مولار سبب افزایش کمیت اسانس در هر دو گیاه گردید، و نیز درصد اسانس در ریحان تحت تأثیر غلظت 10^{-4} مولار اسیدسالیسیلیک افزایش یافت، با این وجود درصد اسانس در مرزنجوش تحت تأثیر اسیدسالیسیلیک در غلظت 10^{-4} مولار کاهش یافت (Gharib, 2007).

عملکرد اسانس

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که تأثیر اسیدسالیسیلیک بر عملکرد اسانس در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد، اما این مشخصه تحت تأثیر زمان محلول‌پاشی و اثر متقابل اسیدسالیسیلیک و زمان معنی‌دار نگردید. نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بالاترین عملکرد اسانس (۱/۱۴ میلی گرم در مترمربع) در حین رشد رویشی و در غلظت 10^{-2} مولار اسیدسالیسیلیک و کمترین میزان آن (۰/۲۲ میلی گرم در مترمربع) در زمان گل‌دهی و در شاهد مشاهده گردید. بوچر و همکاران (Boutcher et al., 1999) گزارش کردند که محلول‌پاشی اسیدسالیسیلیک در گیاهان ریحان و مرزنجوش باعث افزایش عملکرد اسانس در مقایسه با شاهد شد (Böttcher et al., 1999). همچنین در ریحان باعث افزایش درصد اسانس گردید، اما در مرزنجوش نتیجه مخالف را نشان داد و باعث کاهش درصد اسانس شد. افزایش عملکرد اسانس تحت تأثیر اسیدسالیسیلیک می‌تواند با افزایش در رشد رویشی، جذب مواد غذایی، تغییر در تعداد غدد حاوی اسانس و سنتز مونوترپن‌ها مرتبط باشد. کاربرد اسیدسالیسیلیک خارجی می‌تواند باعث افزایش غلظت درونی آن گردد که احتمال دارد تولید متابولیت‌های ثانویه ناشی از افزایش این اسید گیاه باشد. همچنین اسیدسالیسیلیک می‌تواند با تأثیر بر جذب عناصر غذایی گیاه، در افزایش ازت و فسفر که از عناصر مهم در تولید اسانس و عملکرد اسانس گیاه می‌باشد، مؤثر واقع شده و در نهایت، منجر به افزایش سنتز اسانس شود.

بهبود در افزایش جذب عناصر غذایی، فرآیند فتوسنتز و انتقال بیشتر آسمیلات‌ها از منبع به مخزن دانست که با یافته‌های دیگر محققان هم‌خوانی دارد (Grieve et al., 1992; Pastírová et al., 2004; Arfan et al., 2007). این مطالب بیانگر آن هستند که تیمار اسید سالیسیلیک باعث افزایش عملکرد از طریق افزایش در تعداد غلاف، تعداد دانه در غلاف و وزن ۱۰۰ دانه می‌شود (Pastírová et al., 2004). فویل و همکاران (Faville et al., 1999) دریافتند که میزان فتوسنتز با عملکرد گیاهان زراعی رابطه مستقیمی دارد (Faville et al., 1999). با توجه به این گزارش‌ها می‌توان این‌گونه استدلال کرد که احتمالاً به‌خاطر بیشتر بودن میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی در رقم مقاوم، میزان فتوسنتز و در نتیجه، تولید مواد حاصل از فتوسنتز افزایش یافته که منجر به افزایش عملکرد نهایی شده است. این نتایج با یافته‌های به‌دست آمده توسط شبانی و احسانپور (Shabani et al., 2010) مطابقت دارد که گزارش کردند بیشترین عملکرد دانه در ارقامی به‌دست می‌آید که دارای میزان فتوسنتز بیشتری بودند (Shabani & Ehsanpour, 2010).

ارتفاع بوته

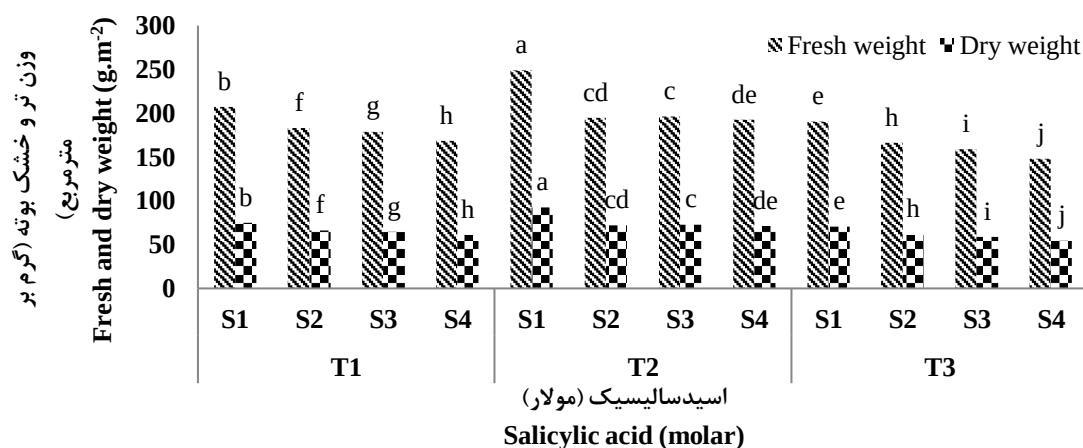
با توجه به جدول تجزیه واریانس، ارتفاع بوته‌ها در تیمار اسیدسالیسیلیک، زمان و اثر متقابل اسیدسالیسیلیک و زمان در سطح یک درصد معنی‌دار گردید. نتایج مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۲) نشان داد که بیشترین ارتفاع بوته (۲۹/۰۱ سانتی متر) را تیمار 10^{-2} مولار اسیدسالیسیلیک در حین رشد رویشی و کمترین آن را نمونه شاهد (۲۳/۲۴ سانتی متر) در زمان گل‌دهی داشت. در یک بررسی گزارش شد، استفاده از اسیدسالیسیلیک موجب افزایش تقسیم سلولی درون مریستم و در نتیجه، موجب افزایش ارتفاع بوته می‌شود (Yue et al., 2009). همچنین در تحقیق دیگری گزارش شد که استفاده از اسیدسالیسیلیک، ارتفاع بوته سویا را افزایش داد (Gutiérrez et al., 1998). به نظر می‌رسد که اسیدسالیسیلیک با افزایش میزان کلروفیل در برگ‌هایی که در آغاز فرآیند پیری هستند، می‌تواند سبب افزایش مجدد فتوسنتز و در نتیجه، افزایش رشد گردد (Mozaffarian, 1998). غریب (Gharib, 2007) در یک بررسی نشان داد که اسیدسالیسیلیک از طریق افزایش فعالیت‌های فتوسنتزی، رشد و ارتفاع گیاهان ریحان و مرزنجوش را افزایش داد (Gharib, 2007). باکری و همکاران (Bakry et al., 2012) بیان کردند که اسیدسالیسیلیک با افزایش تقسیم و طویل شدن سلولی، افزایش فعالیت‌های آنزیمی و تولیدات فتوسنتزی توانست رشد گیاه کتان را بهبود و منجر به افزایش ارتفاع گیاه گردد (Bakry et al., 2012).

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر زمان محلول پاشی و غلظت اسیدسالیسیلیک بر صفات گیاه کاکوتی

Table 1- ANOVA for the effect of time and concentration of salicylic acid on some attributes in *Ziziphora clinopodioides* Lam.

منبع تغییرات S.O.V	درجه ازادی df	میانگین مربعات Mean squares						
		وزن تر Fresh weight	وزن خشک Dry weight	ارتفاع بوته Plant height	درصد اسانس Essential oil percentage	عملکرد اسانس Essential oil yeild	میزان فنل کل Total phenol content	میزان فلاونوئید Flavonoid content
زمان محلول پاشی Time of sparying	2	5340.641**	791.8974**	16.47191**	0.0266028 ns	0.0423648 ns	0.0138877**	0.0168887**
خطای عامل اصلی Main factor error	6	327.203	1.4212	0.06261	0.1562750	0.0686139	0.0001842	0.0001516
اسیدسالیسیلیک Salicylic acid concentration	3	3647.586**	494.4340**	16.84046**	0.1095556 ns	0.1905346**	0.0191562**	0.0087954**
غلظت × زمان Concentration × time	6	164.811**	23.6561**	1.68133**	0.0690028 ns	0.0369823 ns	0.0159083**	0.0014421**
میانگین مربعات خطا Mean square error	22	90.79	0.538	0.02810	0.078913	0.034306	0.000349	0.000105
ضریب تغییرات CV		0.142	0.1406	0.0656	0.2770	0.3149	0.1798	0.1839

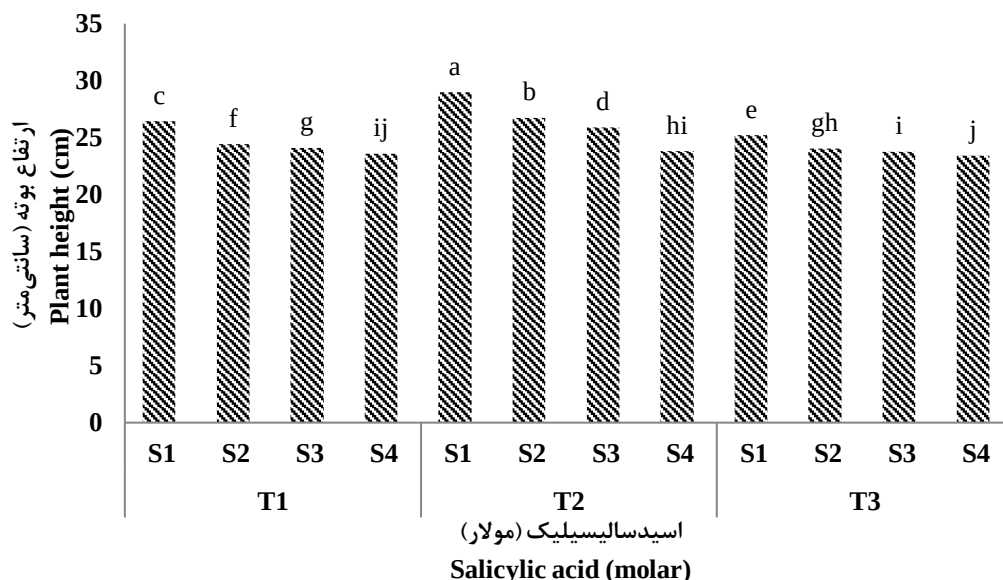
* و **: به ترتیب معنی داری در سطح احتمال پنج و یک درصد، ns: عدم وجود تفاوت معنی دار
*, **: Significant at 5 and 1% possibility level respectively; ns: None significant



شکل ۱- اثر سطوح مختلف اسیدسالیسیلیک بر وزن تر و خشک گیاه کاکوتی

Figure 1- The fresh and dry herb weight of *Ziziphora clinopodioides* Lam. under different levels of salicylic acid

(غلظت‌های S1، S2، S3 و S4 به ترتیب 10^{-2} ، 10^{-4} ، 10^{-6} و 10^{-8} مولار اسیدسالیسیلیک و صفر (شاهد) و زمان‌های T1، T2 و T3 زمان‌های متفاوت کاربرد اسیدسالیسیلیک به ترتیب در آغاز رشد رویشی، در حین رشد رویشی و در زمان گل‌دهی بوده و مقایسه میانگین‌ها براساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد می باشد). (S1، S2، S3، S4 show 10^{-2} ، 10^{-4} ، 10^{-6} M and zero (control) salicylic acid concentrations respectively and T1، T2، T3 are salicylic acid application times at the beginning of vegetative growth, during vegetative growth and flowering time respectively) (DMRT, $p \leq 0.05$)



شکل ۲- اثر سطوح مختلف اسیدسالیسیلیک بر ارتفاع بوته در گیاه کاکوتی

Figure 2- The plant height of *Ziziphora clinopodioides* Lam. under different levels of salicylic acid

(غلظت‌های S1، S2، S3 و S4 به ترتیب 10^{-2} ، 10^{-4} ، 10^{-6} و 10^{-6} مولار اسیدسالیسیلیک و صفر (شاهد) و زمان‌های T1، T2 و T3 زمان‌های متفاوت کاربرد اسیدسالیسیلیک به ترتیب در آغاز رشد رویشی، در حین رشد رویشی و در زمان گل‌دهی بوده و مقایسه میانگین‌ها براساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد می باشد). (S1, S2, S3, S4 show 10^{-2} , 10^{-4} , 10^{-6} M and zero (control) salicylic acid concentrations respectively and T1, T2, T3 are salicylic acid application times at the beginning of vegetative growth, during vegetative growth and flowering time respectively) (DMRT, $p \leq 0.05$)

جدول ۲- اثرات ساده غلظت اسیدسالیسیلیک و زمان محلول‌پاشی بر درصد و عملکرد اسانس گیاه کاکوتی

Table 2- The effect of application times and levels of salicylic acid on the essential oil content and yield of *Ziziphora clinopodioides* Lam.

تیمارها	درصد اسانس	عملکرد اسانس (میلی گرم در مترمربع)
Treatments	Essential oil percentage (%)	Essential oil yield (mg.m ⁻²)
غلظت اسیدسالیسیلیک Salicylic acid concentration	S1	1.16 ^{a*}
	S2	1.07 ^a
	S3	1.15 ^a
	S4	0.92 ^a
زمان‌های مختلف کاربرد اسیدسالیسیلیک Different times to apply salicylic acid	T1	1.08 ^a
	T2	1.03 ^a
	T3	1.12 ^a

S1، S2، S3 و S4: به ترتیب غلظت‌های 10^{-2} ، 10^{-4} ، 10^{-6} و 10^{-6} مول اسیدسالیسیلیک و صفر (شاهد) و T1، T2 و T3: زمان‌های متفاوت کاربرد اسیدسالیسیلیک به ترتیب در آغاز رشد رویشی، در حین رشد رویشی و در زمان گل‌دهی می‌باشند.

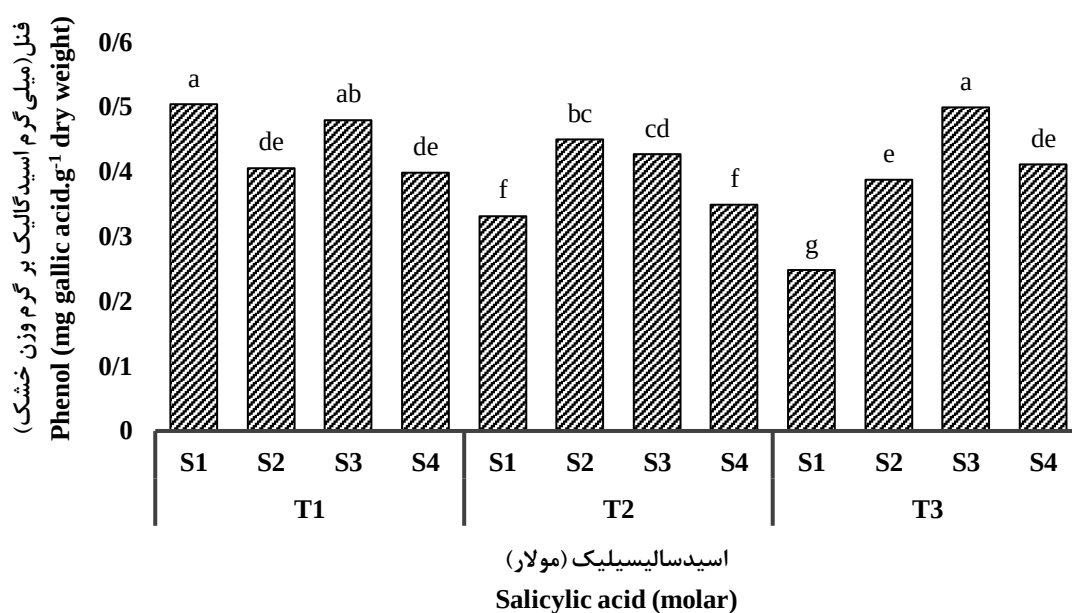
* در هر ستون، اعداد دارای حروف مشابه از نظر آماری در سطح پنج درصد با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.
(S1, S2, S3, S4 show 10^{-2} , 10^{-4} , 10^{-6} M and zero (control) concentrations of salicylic acid respectively and T1, T2, T3 are salicylic acid application times at the beginning of vegetative growth, during vegetative growth and flowering time respectively)

* In each column, the numbers with the same letters are not significant at the 5% of probability levels based on Duncan's multiple range test.

محتوای فنل کل

رشد رویشی دارای بیشترین میزان فنل کل (۰/۵۰ میلی گرم معادل اسیدگالیک بر گرم وزن خشک) و تیمار 10^{-2} مولار اسیدسالیسیلیک در زمان گل‌دهی دارای کمترین میزان فنل کل (۰/۲۴ میلی گرم معادل اسیدگالیک بر گرم وزن خشک) بودند (شکل ۳).

براساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس، میزان فنل کل در اثر اسیدسالیسیلیک، زمان محلول‌پاشی و اثر متقابل اسید و زمان در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. با توجه به نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، در بین تیمارها، تیمار 10^{-2} مول اسیدسالیسیلیک و در آغاز



شکل ۳ - اثر سطوح مختلف اسیدسالیسیلیک بر میزان تغییرات فنل کل در گیاه کاکوتی

Figure 3-The phenol changes of *Ziziphora clinopodioides* Lam. under different levels of salicylic acid

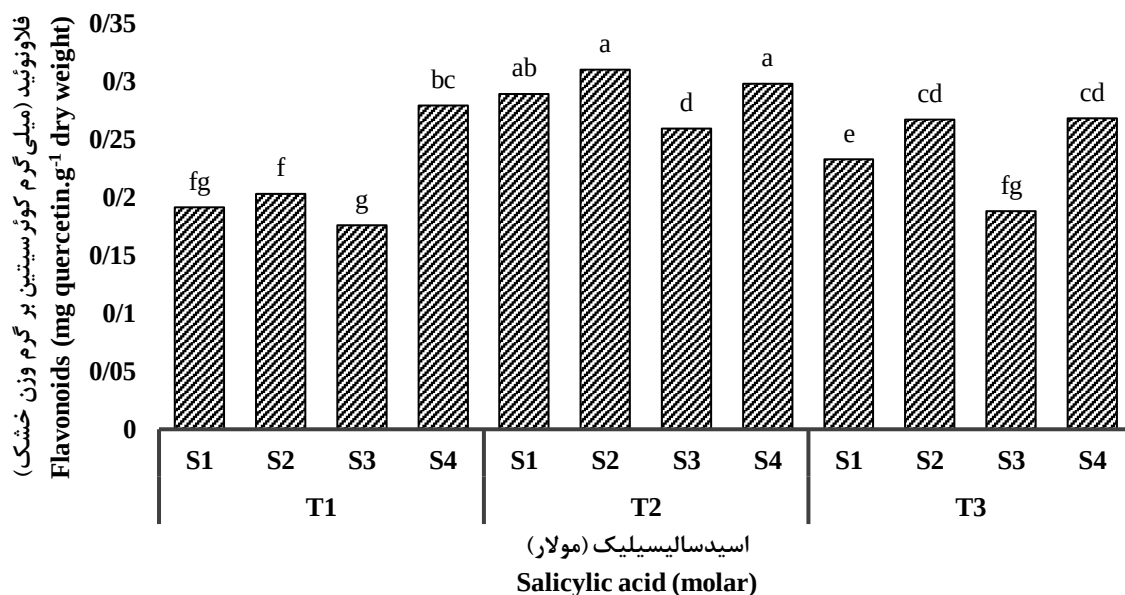
(غلظت‌های S1, S2, S3 و S4 به ترتیب 10^{-2} ، 10^{-4} ، 10^{-6} مول اسیدسالیسیلیک و صفر (شاهد) و زمان‌های T1, T2 و T3 زمان‌های متفاوت کاربرد اسیدسالیسیلیک به ترتیب در آغاز رشد رویشی، در حین رشد رویشی و در زمان گل‌دهی بوده و مقایسه میانگین‌ها براساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد می باشد.) (S1, S2, S3, S4 show 10^{-2} , 10^{-4} , 10^{-6} M and zero (control) salicylic acid concentrations respectively and T1, T2, T3 are salicylic acid application times at the beginning of vegetative growth, during vegetative growth and flowering time respectively) (DMRT, $p \leq 0.05$)

فلاونوئید

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که میزان فلاونوئید در تیمار اسیدسالیسیلیک، زمان محلول‌پاشی و اثر متقابل اسیدسالیسیلیک و زمان در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار گردید. براساس نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، در بین داده‌ها بیشترین میزان فلاونوئید (0.31 میلی گرم معادل کوئرستین بر گرم وزن خشک) را تیمار 10^{-4} مولار اسیدسالیسیلیک در حین رشد رویشی و کمترین میزان (0.17 میلی گرم معادل کوئرستین بر گرم وزن خشک) را تیمار 10^{-6} مولار اسیدسالیسیلیک در آغاز رشد رویشی به خود اختصاص دادند (شکل ۴). کاربرد اسیدسالیسیلیک به عنوان عامل تنش‌زا موجب تولید طیف وسیعی از فلاونوئیدها می‌شود. پاستیروا و همکاران (Pastirova et al., 2004) بیشترین مقدار آمبلی فرون را در ۷۲ ساعت بعد از کاربرد یک میلی مولار اسیدسالیسیلیک مشاهده کردند (Pastirová et al., 2004). در یک بررسی، در غلظت‌های ۵۰ و ۲۵۰ میکرومولار تغییر در ترکیب آمبلی فرون مشاهده نشد، ولی افزایش بسیار معنی‌داری در میزان اسیدهای فنلی مشاهده شد (Bayat et al., 2011). زینعلی و همکاران (Zeynali et al., 2008) طی تحقیقی مشاهده کردند که متیل جاسمونات و اسیدسالیسیلیک تاحدی سبب افزایش ترکیبات فنل و فلاونوئید کل در کشت شیرین بیان

نتیجه‌گیری

به طور کلی، از نتایج این آزمایش چنین استنباط می‌شود که اثر متقابل تیمار اسیدسالیسیلیک و زمان محلول‌پاشی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار گردید، به طوری که استفاده از 10^{-2} مولار اسید سالیسیک و در حین رشد رویشی، بیشترین تأثیر را در افزایش عملکرد وزن تر و خشک، ارتفاع و عملکرد اسانس گیاه کاکوتی دارد. در مورد محتوای فنل کل، تیمار 10^{-2} مولار و در آغاز رشد رویشی و در مورد مقدار فلاونوئید تیمار 10^{-4} مولار و در حین رشد رویشی بیشترین تأثیر را دارا بود. در ضمن، علی رغم اینکه اثر متقابل تیمار اسیدسالیسیلیک و زمان محلول‌پاشی روی درصد و عملکرد اسانس معنی‌دار نشد، اما غلظت 10^{-2} مولار اسید سالیسیک باعث دستیابی به بیشترین مقدار درصد و در نتیجه، عملکرد اسانس گردید و توانست با بهبود رشد گیاه، عملکرد اسانس را افزایش دهد.



شکل ۴- اثر سطوح مختلف اسیدسالیسیلیک بر میزان تغییرات فلاونوئید در گیاه کاکوتی

Figure 4- The flavonoid changes of *Ziziphora clinopodioides* Lam. under different levels of salicylic acid

غلظت‌های S4 و S3، S2، S1 به ترتیب 10^{-2} ، 10^{-4} ، 10^{-6} مول اسیدسالیسیلیک و صفر (شاهد) و زمان‌های T1، T2 و T3 زمان‌های متفاوت کاربرد اسیدسالیسیلیک به ترتیب در آغاز رشد رویشی، در حین رشد رویشی و در زمان گل‌دهی بوده و مقایسه میانگین‌ها براساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد می باشد. (S1، S2، S3، S4 show 10^{-2} ، 10^{-4} ، 10^{-6} M and zero (control) salicylic acid concentrations respectively and T1، T2، T3 are salicylic acid application times at the beginning of vegetative growth, during vegetative growth and flowering time respectively) (DMRT, $p \leq 0.05$)

References

- Ananieva, E.A., Christov, K.N., & Popova, L.P. (2004). Exogenous treatment with salicylic acid leads to increased antioxidant capacity in leaves of barley plants exposed to paraquat. *Journal of Plant Physiology*, 161, 319–328. <https://doi.org/10.1078/0176-1617-01022>
- Arfan, M., Athar, H.R., & Ashraf, M. (2007). Does exogenous application of salicylic acid through the rooting medium modulate growth and photosynthetic capacity in two differently adapted spring wheat cultivars under salt stress?. *Journal of Plant Physiology*, 164(6), 685–694. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2006.05.010>
- Babakhanloo, M., Mirza, M., Sefidkon, V.A.L., Graceful, D., & Asgar, P. (1998). *Ziziphora clinopodioides* Investigate the chemical composition of the essential oil of allium (*Z. clinopodioides*). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 2, 114–103. (In Persian)
- Bakry, B.A., El-Hariri, D.M., Sadak, M.S., & El-Bassiouny, H.M.S. (2012). Drought stress mitigation by foliar application of salicylic acid in two linseed varieties grown under newly reclaimed sandy soil, *Journal of Applied Sciences Research*, 8(7), 3503–3514.
- Bayat, H., Mardani, H., Arouie, H., & Salahvarzi, Y. (2011). Effects of salicylic acid on morphological and physiological characteristics of cucumber seedling (*Cucumis sativus* cv. Super Dominus) under drought stress. *Journal of Plant Production Research*, 18(3), 63–76.
- Böttcher, H., Günther, I., & Bauermann, U. (1999). Physiological postharvest responses of marjoram (*Majorana hortensis* Moench). *Postharvest Biology and Technology*, 15(1), 41–52. [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(98\)00065-9](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(98)00065-9)
- Chachoyan, A.A., & Oganessian, G.B. (1996). Antitumor activity of some species of the family Lamiaceae. *Rastitelnye Resursy*, 32(4), 59–64.
- Dong ShuTing, D.S., Gao RongQi, G.R., Hu ChangHao, H.C., Wang QunYing, W.Q., & Wang KongJun, W.K. (1997). Study of canopy photosynthesis properties and high yield potential after anthesis in maize. *Zuo Wu Xue Bao*; 23(3), 318–325.
- Faville, M.J., Silvester, W.B., Green, T.A., & Jermyn, W.A. (1999). Photosynthetic characteristics of three asparagus cultivars differing in yield. *Crop Science*, 39(4), 1070–1077. <https://doi.org/10.2135/cropsci1999.0011183X003900040019x>

- 10- Gharib, F. (2007). Effect of salicylic acid on the growth, metabolic activities and oil content of basil and marjoram. 294-301.
- 11- Grieve, C.M., Lesch, S.M., Francois, L.E., & Maas, E.V. (1992). Analysis of main-spike yield components in salt-stressed wheat. *Crop Science*, 32(3), 697-703.
- 12- Gutiérrez, C., Antonio, M., Trejo-López, C., & Larqué-Saavedra, A. (1998). Effects of salicylic acid on the growth of roots and shoots in soybean. *Plant Physiology and Biochemistry*, 36(8), 563-565. [https://doi.org/10.1016/S0981-9428\(98\)80003-X](https://doi.org/10.1016/S0981-9428(98)80003-X)
- 13- Jaiswal, P., & Bhambie, S. (1989). Effect of growth regulating substances on podding and yield of *Vigna radiata* (L.) Wilczek (mung bean). pp. 54-58.
- 14- Jamzad, Z. (2009). New species and new plant records of Lamiaceae from Iran. *The Iranian Journal of Botany*, 15(1), 51-56.
- 15- Khandaker, L., Akond, A.M., & Oba, S. (2011). Foliar application of salicylic acid improved the growth, yield and leaf's bioactive compounds in red amaranth (L.). *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*. 74(1), 77-86. <https://doi.org/10.2478/v10032-011-0006-6>
- 16- Khavari-Nejad, R., & Asadi, A.K. (2006). The effect of salicylic acid on some of the secondary metabolites (saponins and anthocynins) and induction of antimicrobial resistance in the medicinal plant *Bellis perennis* L. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 21(4), 553-586. <https://doi.org/10.22092/ijmapr.2006.115038>
- 17- Klessig, D.F., & Malamy, J. (1994). The salicylic acid signal in plants. *Plant Molecular Biology*. 26, 1439-1458. <https://doi.org/10.1007/BF00016484>
- 18- Kumar, P., Dube, S., Mani, V., & Chauhan, V., (1997). Effect of salicylic acid on flowering, pod formation and yield of pea (*Pisum sativum* L.). National Seminar on Plant Physiology for Sustainable Agriculture, IARI, New Delhi, March.
- 19- Mahdipour, M. (2013). The impact of organic fertilizers, mineral and salicylic acid on yield components and some secondary metabolites of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.). M.Sc. Thesis, Government - Ministry of Science, Research, and Technology, Iran. (In persian)
- 20- Mozaffarian, V., (1998). A dictionary of Iranian plant manes. 2nd. *Farhang Moaser Publication, Tehran*.
- 21- Naghibi, F., Mosaddegh, M., Motamed, S.M., & Ghorbani, A. (2005). Labiatae family in folk medicine in Iran: from ethnobotany to pharmacology. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 4(2), 63-79. <https://doi.org/10.22037/ijpr.2010.619>
- 22- Pastírová, A., Repčák, M., & Eliašová, A.J.P.S. (2004). Salicylic acid induces changes of coumarin metabolites in *Matricaria chamomilla* L. *Plant Science*, 167(4), 819-824. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2004.05.027>
- 23- Pramod Kumar, P.K., Dube, S., & Chauhan, V., (1999). Effect of salicylic acid on growth, development and some biochemical aspects of soybean (*Glycine max* L. Merrill). pp. 327-330.
- 24- Salehi, P., Sonboli, A., Eftekhari, F., Nejad-Ebrahimi, S.M., Yousefzadi, J.B., & Bulletin, P., (2005). Essential oil composition, antibacterial and antioxidant activity of the oil and various extracts of *Ziziphora clinopodioides* subsp. rigida (B. OISS.) RECH. f. from Iran. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 28(10), 1892-1896. <https://doi.org/10.1248/bpb.28.1892>
- 25- Shabani, L., & Ehsanpour, A. (2010). Induction of antioxidant enzymes, phenolic and flavonoid compounds in *in vitro* culture of licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) using methyl jasmonate and salicylic acid. *Iranian Journal of Biology*, 22(4), 691-703. <https://sid.ir/paper/21603/en>
- 26- Singh, G., & Kaur, M. (1980). Effect of growth regulators on podding and yield of mung bean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek). *Indian Journal of Plant Physiology*, 23, 366-370
- 27- Yue, W., Shao-Ting, D., Ling-Ling, L., Huang, L.D., Ping, F., Xian-Yong, L., Zhang, Y.S., & Hai-Long, W.J.P. (2009). Effect of CO₂ elevation on root growth and its relationship with indole acetic acid and ethylene in tomato seedlings. *Pedosphere*, 19(5), 570-576. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(09\)60151-X](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(09)60151-X)
- 28- Zeynali, H., Khoulanjani, M., Bagheri, M., Golparvar, R., Jafarpour, M., & Shiranirad, A.H. (2008). Effect of different planting time and nitrogen fertilizer rates on flower yield and its components in German chamomile (*Matricaria recutita*). *Iranian Journal of Crop Sciences*, 10(3), 220-230.

The Effect of Foliar Application of Calcium Chloride, Ascorbic Acid and Harvest Time on Fruit Quality of Tomato (*Solanum lycopersicum* cv. SV8320TD)

Z. Khalili¹, F. Nekounam^{2*}, T. Barzegar³, Z. Ghahremani³, M. Farhangpour¹

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

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

Received: 05-05-2023
Revised: 18-07-2023
Accepted: 09-08-2023
Available Online: 12-08-2023

How to cite this article:

Khalili, Z., Nekounam, F., Barzegar, T., Ghahremani, Z., & Farhangpour, M. (2024). The effect of foliar application of calcium chloride, ascorbic acid and harvest time on fruit quality of tomato (*Solanum lycopersicum* cv. SV8320TD). *Journal of Horticultural Science*, 38(4), 639-653. (In Persian with English abstract).
<https://doi.org/10.22067/jhs.2023.82265.1265>

Introduction

Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) belongs to the Solanaceae family, which is one of the most widely cultivated and economically important vegetables in the world, which is an excellent source of ascorbic acid and has high antioxidant capacity against oxidative damage caused by free radicals. Ascorbic acid (AsA) is a water-soluble vitamin that plays a key physiological role in scavenging reactive oxygen species (ROS), and enzyme cofactor. Ascorbic acid is antioxidant and anti-stress agent, and also acts as a signaling molecule in some plant physiological processes and defense mechanisms. Positive roles of such antioxidants in scavenging or chelating the free radicals and activating the natural resistance against different biotic and abiotic stresses have been reported in several fruit trees. Calcium has a vital role for normal growth and development of plants due to an important role in balancing membrane structures, increasing nutrient uptakes and activates of metabolic processes. Calcium plays a vital role in maintains cell wall stability, integrity and determining the fruit quality. To our knowledge, however, little information is available regarding the interaction effect of ascorbic acid and calcium chloride on tomato. Thus, the aim of this study was to investigate the foliar application of ascorbic acid and calcium chloride on quality and antioxidant capacity of tomato fruit.

Materials and Methods

To study the effect of foliar application of calcium chloride (Ca) and Ascorbic acid (AsA) on growth, yield and fruit quality of tomato, the field experiment was carried out from June to September 2021 at Research farm of faculty of Agriculture, at the University of Zanjan, Iran. Each treatment was carried out with three replicates. Different concentrations of Ca (0, 0.3, 0.6 and 0.9 %) and AsA (0, 100, 200 and 300 mg.l⁻¹) were sprayed three times (0, 15, 30 days after full bloom). Fruits were harvested at two harvests stage (orange and red color) and transferred to the laboratory on the same day. Flesh firmness was determined with penetrometer (model Mc Cormic FT 32), using an 8 mm penetrating tip. Results were expressed in kg cm⁻². The pH values of solutions were monitored with pH meter. TSS was measured in the extract obtained from three fruit of each replicate with a digital refractometer Atago PR-101 (Atago Co., Ltd., Tokyo, Japan) at 20°C. Total ascorbic acid content was expressed as mg per 100 g of juice. Antioxidant activity was measured using the free radical scavenging activity (DPPH) and calculated according to the following formula: $RSA\% = 100(Ac-As)/Ac$. Statistical analyses were performed with SPSS software package v. 20.0 for Windows, and means comparison were separated by Duncan's multiple range tests at $p < 0.05$.



©2023 The author(s). This is an open access article distributed under [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

<https://doi.org/10.22067/jhs.2023.82265.1265>

Results and Discussion

The results showed that fruit harvested at red color stage had higher vitamin C, total soluble solid (TSS), total phenol, flavonoids contents and antioxidant capacity compared to fruit harvested at orange color stage. Foliar application of AsA and Ca had significantly improved tomato fruit quality. The highest value of TSS (4.9 °B), vitamin C (46.1 mg.100 ml⁻¹), total phenol and flavonoids contents and antioxidant capacity (36%) was achieved with application of 300 mg.l⁻¹ AsA and 0.9% Ca in fruit harvested at red color harvest time. The lowest value of pH and highest TA was observed in red color fruit treated with 300 mg.l⁻¹ AsA and all Ca levels. Ca had significant effect on fruit firmness, which the highest fruit firmness was obtained from 0.9% Ca. The fresh tomato is an important source of ascorbic acid for human consumption. AsA significantly increased the amount of vitamin C in the plum and sweet pepper fruits. Increasing vitamin C content in fruits after treatment with Ca could be related to inhibiting action of calcium on the activities of ascorbic acid oxidase that use ascorbate as a substrate. The results indicated that treatment of Ca produced fruits with higher firmness compared to control and other treatments. Firmness and resistance to softening can be increased by the addition of Ca, due to interaction of calcium with pectate acid in the cell wall to form calcium pectate and retarding polygalacturonase activity. Differences in the percentage of TSS content at the time of harvest indicated the AsA and Ca effects on carbohydrate accumulation in fruits, which had different potential on respiration rates and consequently storability of plants. The antioxidant activity has positive correlation with total phenolic content, flavonoids and content of ascorbic acid.

Conclusions

The results of our research indicated that per-harvest foliar application of AsA and Ca improved fruit quality attributes including vitamin C, fruit firmness, TSS and antioxidant activity. These results suggest that AsA and Ca treatments, especially AsA 300 mg.l⁻¹ and Ca 0.9%, may be proposed to improve fruit quality.

Keywords: Antioxidant capacity, Fruit firmness, Phenolic compounds, Vitamin C

مقاله پژوهشی

جلد ۳۸، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۳، ص. ۶۵۳-۶۳۹

اثر محلول پاشی کلسیم کلرید و اسیدآسکوربیک و زمان برداشت بر صفات کیفی میوه گوجه فرنگی (*Solanum lycopersicum* cv. SV8320TD)

زهرا خلیلی^۱ - فاطمه نکونام^{۲*} - طاهر برزگر^۳ - زهرا قهرمانی^۳ - ملیحه فرهنگ پور^۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۲/۱۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۵/۱۸

چکیده

به منظور مطالعه تأثیر محلول پاشی اسیدآسکوربیک و کلسیم کلرید و زمان برداشت بر کیفیت میوه گوجه فرنگی (*Solanum lycopersicum* L. cv. SV8320TD)، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل اسیدآسکوربیک در چهار سطح (صفر، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی گرم در لیتر) و کلسیم کلرید در چهار سطح (صفر، ۰/۳، ۰/۶ و ۰/۹ درصد) و زمان برداشت میوه در دو مرحله نارنجی و قرمز رنگ بود. نتایج نشان داد که میوه‌های برداشت شده در مرحله قرمز رنگ دارای ویتامین ث، مواد جامد محلول، فنل، فلاونوئید و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری در مقایسه با میوه‌های نارنجی رنگ بودند. کاربرد اسیدآسکوربیک و کلسیم کلرید به طور فزاینده‌ای کیفیت میوه را بهبود بخشیدند. بیشترین میزان سفتی بافت (۲۱/۷ و ۲۱/۴ کیلوگرم بر سانتی متر) به ترتیب در میوه‌های نارنجی رنگ تحت تیمار اسیدآسکوربیک ۱۰۰ میلی گرم در لیتر و کلسیم کلرید ۰/۹ درصد و میوه‌های قرمز رنگ حاصل از تیمار اسیدآسکوربیک ۲۰۰ میلی گرم در لیتر و کلسیم کلرید ۰/۹ درصد به دست آمد. حداکثر مقدار مواد جامد محلول (۴/۹ درصد بریکس)، ویتامین ث (۴۶/۱ ملی گرم در ۱۰۰ میلی لیتر)، فنل و فلاونوئید و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (۳۶ درصد) در میوه‌های قرمز رنگ حاصل از گیاهان تیمار شده با اسیدآسکوربیک ۳۰۰ میلی گرم در لیتر و کلسیم کلرید ۰/۹ درصد مشاهده شد. کمترین میزان اسیدیته و حداکثر اسید قابل تیتراسیون با کاربرد اسیدآسکوربیک ۳۰۰ میلی گرم در لیتر و همه سطوح کلسیم کلرید در میوه‌های قرمز رنگ حاصل شد. با توجه به نتایج، کاربرد اسیدآسکوربیک ۳۰۰ میلی گرم در لیتر و کلسیم کلرید ۰/۹ درصد جهت بهبود شاخص‌های کیفی میوه گوجه فرنگی پیشنهاد می‌شود.

واژه‌های کلیدی: ترکیبات فنلی، سفتی بافت میوه، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، ویتامین ث

مقدمه

گوجه فرنگی (*Solanum lycopersicum* L.) گیاهی چندساله متعلق به خانواده Solanaceae که در مناطق معتدل به صورت یک ساله کشت و کار می‌شود (Nizamani et al., 2020). میوه گوجه فرنگی منبع مهمی از ویتامین‌های A و C، املاح کلسیم و پتاسیم و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از جمله کاروتنوئیدها و لیکوپن است و به صورت تازه خوری و فرآوری قابل مصرف می‌باشد.

کیفیت میوه‌های گوجه فرنگی تحت تأثیر عوامل متعدد قبل و بعد از برداشت است. از جمله مهم‌ترین عوامل پیش از برداشت، شرایط

محیطی که بوته‌های گوجه فرنگی در آن رشد می‌کنند و همچنین مرحله رسیدن میوه در هنگام برداشت، بیشترین تأثیر را بر کیفیت میوه دارند (Kacjan et al., 2011). گوجه فرنگی به عنوان یک میوه فرازگرا، می‌تواند در مراحل مختلف بلوغ شامل سبز بالغ، رنگ اندازی، تغییر رنگ، صورتی و مرحله قرمز رنگ برداشت شود. این مراحل بلوغ به طور قابل توجهی بر فرآیند فیزیولوژیکی میوه، کیفیت پس از برداشت و ویژگی‌های حسی پس از برداشت تأثیر می‌گذارد (Tolasa et al., 2021).

میوه گوجه فرنگی به علت بافت نرم و آبکی در زمان برداشت، از فسادپذیری بالایی برخوردار است. مخصوصاً زمانی که میوه رسیده و نرم بوده، فاصله محل تولید تا مصرف زیاد باشد و شرایط حمل و نقل و نگهداری مناسب نباشد، درصد ضایعات میوه افزایش می‌یابد. هر اندازه

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، استادیار و دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

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

<https://doi.org/10.22067/jhs.2023.82265.1265>

سفتی بافت میوه زیاد باشد، ماندگاری میوه بهتر بوده و از ضایعات کمتری برخوردار خواهد بود (EL-Katatny et al., 2012).

کلسیم به عنوان ماده مغذی ضروری گیاه با افزایش سفتی میوه، کاهش اختلالات فیزیولوژیکی، به تأخیر انداختن فرآیند توسعه رنگ و افزایش ماندگاری در شرایط نگهداری، نقش مهمی در بهبود ویژگی‌های کیفی فیزیکی و فیزیولوژیکی میوه‌های گوجه‌فرنگی دارد. اعتقاد بر این است که سازوکارهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی متعدد میوه‌های گوجه‌فرنگی با افزایش سطوح یون کلسیم (Ca^{+2}) در میوه با کاهش سرعت تنفس و تولید اتیلن کنترل می‌شوند (Mazumder et al., 2021). جذب، انتقال و توزیع کلسیم در درون گیاه تحت تأثیر عوامل مختلف بیولوژیکی، اقلیمی و خاک است. به دلیل حرکت کند کلسیم در آوندهای چوبی و توزیع غیریکنواخت در اندام‌های مختلف گیاه، کمبود آن به‌وفور در میوه‌ها مشاهده می‌شود. غلظت پایین کلسیم در بافت میوه دلیل بسیاری از ناهنجاری‌های فیزیولوژیکی به‌خصوص پوسیدگی گلگاه میوه است (Sarwat et al., 2013). محلول‌پاشی کود مؤثرترین راه برای بهبود وضعیت تغذیه گیاهان است، بنابراین لازم است با روش‌هایی همانند محلول‌پاشی، مقدار کلسیم را در میوه‌ها افزایش داد. یافته‌های یک پژوهش نشان داد که استفاده از منابع مختلف کلسیم، محتوای قند کل، ویتامین ث و کاروتنوئید را در میوه‌های فلفل شیرین (*Capcicum annum* L.) افزایش داد (Buczkowska et al., 2016). تیمار قبل و پس از برداشت کلسیم موجب افزایش عملکرد، حفظ کیفیت، کاهش نشت یونی و افزایش سفتی کلم بروکلی (*Brassica oleracea* var. *italica*) شد (Kou, 2015). محلول‌پاشی قبل از برداشت لاکتات کلسیم در گیاه فلفل دلمه‌ای، محتوای ویتامین ث و فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه را افزایش داد (Barzegar et al., 2018). تیمار قبل از برداشت کلسیم کلرید در گوجه‌فرنگی با افزایش محتوای اسیدآسکوربیک، کاروتنوئید، فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی، باعث بهبود کیفیت میوه شد (Mazumder et al., 2021). همچنین محلول‌پاشی کلسیم کربنات باعث افزایش عملکرد قابل فروش، محتوای ویتامین ث، ترکیبات فنلی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه گوجه‌فرنگی شد (Patane et al., 2018).

اسیدآسکوربیک به عنوان یک محرک زیستی رشد گیاه شناخته شده است که در فرآیندهای فیزیولوژیکی و متابولیسمی مانند سنتز پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و آنزیم‌ها نقش دارد (Smirnoff, 2011). اسیدآسکوربیک (ویتامین ث) یک ترکیب ضروری برای بافت‌های گیاهی است، زیرا دارای عملکرد آنتی‌اکسیدانی است و به عنوان کوفاکتور آنزیمی و تنظیم‌کننده رشد گیاه عمل می‌کند. اسیدآسکوربیک همچنین نقش مهمی در فرآیندهای مختلف مانند فتوسنتز، تقسیم و تمایز سلولی و محافظت در برابر تنش‌های محیطی ایفا می‌کند (Fenech et al., 2019).

اسیدآسکوربیک یکی از ترکیبات مهم در میوه گوجه‌فرنگی، نه تنها به عنوان ویتامین در متابولیسم طبیعی یاخته‌ها نقش دارد، بلکه به عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی باعث خنثی شدن رادیکال‌های آزاد اکسیژن و کاهش خسارت ناشی از تنش اکسیداتیو می‌شود و عملکرد و کیفیت سبزی‌ها و میوه‌ها را بهبود می‌بخشد (Minutolo et al., 2020). در سال‌های اخیر، کاربرد خارجی اسیدآسکوربیک به عنوان یک مولکول بیولوژیکی ایمن برای حفظ کیفیت پس از برداشت محصولات باغبانی مورد توجه قرار گرفته است. کاربرد برگی اسیدآسکوربیک در فلفل دلمه‌ای، رشد رویشی، عملکرد و کیفیت میوه به‌خصوص محتوای ویتامین ث و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه را افزایش داد (Barzegar et al., 2018). کاربرد برگی اسیدآسکوربیک در گوجه‌فرنگی، عملکرد را افزایش داد و با کاهش تجمع پراکسید هیدروژن و مالین دی‌آلدئید و پراکسیداسیون لیپیدی غشاء، به‌طور مؤثری تنش اکسیداتیو را در گیاه کاهش داد (Ashibur Rahman et al., 2021).

با این حال، طبق بررسی‌های صورت گرفته، اطلاعات کمی در مورد تأثیر برهم‌کنش اسیدآسکوربیک و کلسیم کلرید قبل از برداشت بر کیفیت میوه‌های گوجه‌فرنگی در دسترس است. بنابراین، هدف از این مطالعه، بررسی محلول‌پاشی اسیدآسکوربیک و کلسیم کلرید بر ویژگی‌های کیفی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گوجه‌فرنگی در زمان برداشت بود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی و آزمایشگاه گروه علوم باغبانی دانشگاه زنجان در سال ۱۴۰۰ انجام شد. اوایل خرداد ماه نشاءهای گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum* cv. SV8320TD) در مرحله چهار - پنج برگی با فاصله بین ردیف‌ها ۱۰۰ سانتی‌متر و فاصله بین بوته‌ها ۳۰ سانتی‌متر در مزرعه کشت شدند. تیمارهای آزمایشی شامل اسیدآسکوربیک در چهار سطح (صفر، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و کلسیم کلرید در چهار سطح (صفر، ۰/۳، ۰/۶، و ۰/۹ درصد) بود و هر واحد آزمایش شامل شش بوته بود (Rab & Haq, 2012; Najafi & Barzegar, 2022). پس از استقرار اولیه گیاهان، اولین محلول‌پاشی کلسیم کلرید و اسیدآسکوربیک در شروع گل‌دهی صورت گرفت و دو بار با فاصله ۱۵ روز یک‌بار در طول دوره گل‌دهی و رشد میوه‌ها تکرار شد. نتایج حاصل از تجزیه خاک محل آزمایش در جدول ۱ آورده شده است. سیستم آبیاری (قطره‌ای-نواری) و دوره آبیاری دو روز یک‌بار بود و در طول فصل رشد، وجین علف‌های هرز به‌صورت دستی انجام شد.

جدول ۱- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش
Table1- Soil physical and chemical parameters of the experiment location

بافت خاک Soil texture	ماده آلی (%) Organic material (%)	نیترژن (%) Nitrogen (%)	کلسیم (گرم بر کیلوگرم) Calcium (g.kg ⁻¹)	سدیم (گرم بر کیلوگرم) Sodium (g.kg ⁻¹)	پتاسیم (گرم بر کیلوگرم) Potassium (g.kg ⁻¹)	هدایت الکتریکی (دسی‌زیمنس بر متر) EC (dS.m ⁻¹)	اسیدیته pH
لوم رسی Lomy clay	0.94	0.07	0.12	0.13	0.20	1.49	7.4

صفات مورد ارزیابی

میوه‌های گوجه‌فرنگی در دو مرحله قرمز و نارنجی‌رنگ برداشت گردید و صفات کیفی آن‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت.

سفتی بافت میوه با استفاده از دستگاه پترومتر مدل (OSK 1618) با پروب به قطر سه میلی‌متری روی سه عدد میوه انجام شد. آزمون سفتی بافت در هر تکرار از دو سمت مقابل هم و از روی پوست میوه انجام شد. سفتی بافت براساس بیشترین نیروی لازم برای نفوذ میله (تا محل مشخص شده) در میوه برحسب کیلوگرم بر سانتی‌مترمربع بیان شد (Jalili Marandi, 2012).

محتوای مواد جامد محلول (TSS) با استفاده از رفراکتومتر دستی مدل (ATAGO Brixo-32%) بر حسب درصد بریکس اندازه‌گیری شد (Mostofi & Najafi, 2014) برای اندازه‌گیری اسیدیته میوه از عصاره تهیه شده از گوشت میوه استفاده گردید و قرائت آن با استفاده از pH متر مدل (Consort-c863) اندازه‌گیری شد.

به‌منظور اندازه‌گیری اسید کل (TA) از تیتراسیون با سدیم هیدروکسید استفاده گردید. بدین منظور، ۱۰ میلی‌لیتر آب میوه با ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر به حجم رسانیده و سپس سه قطره معرف فنل فتالین به آن اضافه شد. محلول حاصل با سدیم هیدروکسید ۰/۱ نرمال تیترو گردید و عمل تیترو کردن تا پایان ظهور رنگ صورتی پایدار ادامه یافت. در نهایت، حجم هیدروکسید مصرفی (V) ثبت گردید. مقدار اسید کل به‌صورت درصد اسید قابل تیتراسیون میوه بر حسب اسیدسیتریک مطابق با معادله ۱ محاسبه شد (Jalili Marandi, 2012).

$$TA\% = (V \times 0.0064 \times 100) / 5 \quad (1)$$

میزان اسیدآسکوربیک (ویتامین ث) موجود در عصاره میوه به‌روش یدومتريک اندازه‌گیری شد. ۱۰ میلی‌لیتر عصاره میوه در ظرف ریخته و روی آن دو میلی‌لیتر محلول نشاسته یک درصد (یک گرم نشاسته در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد) اضافه گردید. محلول حاصل با محلول ید (۱/۲۶۹ گرم ید + ۱۶/۶ گرم یدید پتاسیم را مخلوط کرده و سپس به حجم یک لیتر رسانده)، تیترو گردید و عمل تیتراسیون تا تشکیل رنگ خاکستری روشن ادامه یافت. برای محاسبه اسیدآسکوربیک عصاره میوه از معادله ۲ استفاده شد (Jalili Marandi, 2012).

$$A = SNF \times 88.1 \times 100 / 10 \quad (2)$$

که در آن، A: میزان اسیدآسکوربیک در عصاره میوه (۱۰۰ میلی‌لیتر بر میلی‌گرم)، S: مقدار محلول ید مصرف شده، N: نرمالیه محلول ید مصرف شده (۰/۰۱)، F: فاکتور محلول ید مصرف شده و ۸۸/۱: عدد ثابت است.

اندازه‌گیری میزان فلاونوئید کل میوه به‌روش کيجو (Kaijv et al., 2006) انجام گردید. برای تهیه عصاره، یک گرم از بافت میوه با استفاده از متانول ۸۰ درصد ساییده و به حجم هشت میلی‌لیتر رسانده شد. با اضافه کردن $NaNO_2$ ، $AlCl_3$ و $NaOH$ یک مولار به حجم ۲/۵ میلی‌لیتر رسانده و جذب محلول پس از پنج دقیقه در طول موج ۵۰۷ نانومتر خوانده شد.

محتوای فنل کل میوه با استفاده از معرف فولین سیکالتو (Folin Ciocalteu) استفاده گردید. برای این منظور، ۰/۱ میلی‌لیتر از نمونه‌های رقیق شده همراه با دو میلی‌لیتر Na_2CO_3 دو درصد در لوله آزمایش ریخته شد و به‌مدت دو دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از واکنشگر فولین سیکالتو ۵۰ درصد به آن اضافه گردید. مخلوط واکنش به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و در تاریکی نگهداری و سپس میزان جذب آن در طول موج ۷۲۰ نانومتر خوانده شد (Singleton et al., 1965).

برای اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی از روش رادیکال‌های آزاد DPPH استفاده و برحسب درصد با استفاده از معادله ۳ محاسبه شد (Dehghan et al., 2012).

$$\text{ظرفیت آنتی‌اکسیدانی} = \quad (3)$$

$$100 \times \text{جذب DPPH} / \text{جذب نمونه} - \text{جذب DPPH}$$

تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه 9.1 انجام شد و میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد مقایسه گردید. رسم نمودارها نیز به کمک نرم‌افزار Excel انجام شد.

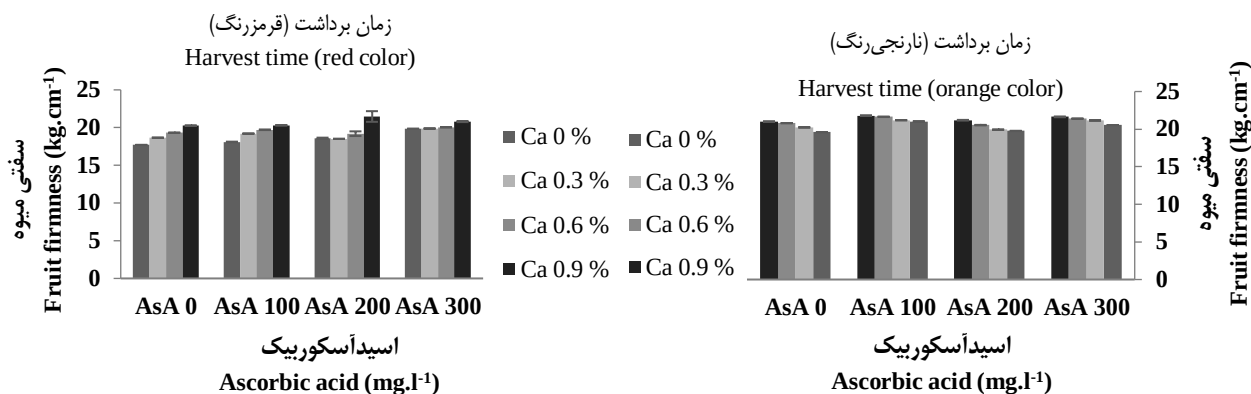
نتایج و بحث

سفتی بافت میوه

براساس نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۲)، اثرات برهم‌کنش تیمارهای اسیدآسکوربیک، کلسیم کلرید و زمان برداشت بر میزان سفتی بافت میوه گوجه‌فرنگی معنی‌دار بود. با توجه به نتایج، میوه‌های

اسیدآسکوربیک ۱۰۰ میلی گرم در لیتر و کلسیم کلرید ۰/۹ و ۰/۶ درصد و میوه های قرمز رنگ حاصل از تیمار اسیدآسکوربیک ۲۰۰ میلی گرم در لیتر و کلسیم کلرید ۰/۹ درصد به دست آمد (شکل ۱) که در مقایسه با میوه های گیاهان شاهد باعث افزایش حدود ۱۰ درصد سفتی بافت میوه شد.

شاهد برداشت شده در مرحله نارنجی رنگ (۱۹/۵) کیلوگرم بر سانتی متر) نسبت به قرمز رنگ (۱۷/۷) کیلوگرم بر سانتی متر) بافت سفت تری داشتند. کاربرد کلسیم به طور معنی داری سفتی بافت میوه را بهبود بخشید. بیشترین میزان سفتی بافت ۲۱/۷ و ۲۱/۴ کیلوگرم بر سانتی متر) به ترتیب در میوه های نارنجی رنگ تحت تیمار



شکل ۱- اثر متقابل محلول پاشی اسیدآسکوربیک × کلسیم کلرید بر سفتی بافت میوه گوجه فرنگی برداشت شده در دو مرحله قرمز و نارنجی رنگ
Figure 1- The interaction effect of foliar spray of ascorbic acid (AsA) × calcium chloride (Ca) on the fruit firmness of tomato harvested at two red and orange stages (DMRT, $p \leq 0.05$)

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر محلول پاشی کلسیم کلرید و اسیدآسکوربیک بر صفات کیفی میوه های گوجه فرنگی برداشت شده در دو مرحله قرمز و نارنجی رنگ

Table 2- ANOVA for the effect of foliar application of calcium chloride and ascorbic acid on the tomato fruit quality traits harvested at two red and orange stages

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	سفتی بافت میوه Fruit firmness	مواد جامد محلول Total soluble solids	اسیدیته pH	اسید قابل تیتراسیون Titratable acidity
بلوک Block	2	0.105	1.093	0.010	0.00003
اسیدآسکوربیک Ascorbic acid (AsA)	3	4.415 ^{ns}	1.130 ^{**}	0.128 ^{**}	0.0006 ^{**}
کلسیم کلرید Calcium chloride (Ca)	3	1.835 ^{**}	0.218 [*]	0.042 ^{ns}	0.0008 ^{ns}
زمان برداشت Harvest time (H)	1	56.779 ^{**}	4.463 ^{**}	0.235 ^{**}	0.026 ^{**}
AsA × Ca	9	3.061 ^{**}	0.785 ^{**}	0.038 [*]	0.0015 ^{**}
AsA × H	3	2.018 ^{**}	0.105 [*]	0.016 ^{**}	0.0006 ^{**}
Ca × H	3	2.573 [*]	0.503 ^{**}	0.004 ^{ns}	0.0011 ^{ns}
AsA × Ca × H	9	1.103 ^{**}	0.234 [*]	0.033 ^{**}	0.0018 ^{**}
خطا Error	62	0.057	0.109	0.018	0.000022
ضریب تغییرات C.V. (%)	—	1.19	8.35	2.81	3.05

ns, *, **: به ترتیب عدم معنی داری، و معنی دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

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

سفتی بافت میوه، یکی از ویژگی‌های کیفی مهم میوه گوجه فرنگی است و با تغییرات کمی و کیفی مواد پکتینی در مراحل مختلف رسیدگی ارتباط مستقیم دارد (Esfahani et al., 2018). در طول رسیدن، سفتی میوه به دلیل فعالیت آنزیم‌های پلی گالاکتوروناز و گلوکوزیداز کاهش می‌یابد (Sabir & Agar, 2011). کاربرد قبل از برداشت کلسیم کلرید بر میوه‌های گوجه فرنگی برداشت شده در مراحل مختلف بلوغ از مرحله رنگ‌اندازی تا قرمز رنگ نشان داد که سفتی بافت میوه از مرحله رنگ‌اندازی تا قرمز رنگ کاهش یافت و همچنین با افزایش غلظت کلسیم کلرید، سفتی بافت میوه افزایش یافت (Tolasa et al., 2021). تأثیر کلسیم بر افزایش سفتی و بهبود خصوصیات فیزیکی میوه به دلیل تأثیر این عنصر در تشکیل دیواره سلولی و استحکام غشاء سلولی می‌باشد. پایداری دیواره سلولی و غشاء، ارتباط نزدیکی با میزان سفتی گوشت میوه دارد. کلسیم به صورت پکتات کلسیم در تیغه میانی برای استحکام دیواره سلولی ضروری است و افزایش استحکام بافت در اثر کلسیم گزارش شده است (Cooper et al., 2007; Singh et al., 2007). کاربرد کلسیم کلرید دو درصد باعث حفظ سفتی بافت میوه هلو (*Prunus persica* cv. Swelling) شد (El-Shazly et al., 2013). تأثیر کلسیم در افزایش سفتی میوه فلفل گزارش شده است (Rubio et al., 2009). براساس نتایج برزگر و همکاران (Barzegar et al., 2018) کاربرد برگی اسیدآسکوربیک (۳۰۰ میلی گرم در لیتر) و کلسیم لاکتات (۱/۵ گرم در لیتر)، سفتی بافت میوه فلفل دلمه‌ای را بهبود بخشیدند. همچنین، لیو و همکاران (Liu et al., 2014) دریافتند که تیمار ۴۰ میلی مولار اسیدآسکوربیک به طور قابل توجهی کاهش سفتی میوه آلو (*Prunus salicina* Lindley. cv. Sanhuali) را به تأخیر انداخت. پیشنهاد شده است که اثرات تیمار اسیدآسکوربیک در به تأخیر انداختن نرم شدن میوه و همچنین بهبود کیفیت پس از برداشت ممکن است به دلیل کاهش پراکسیداسیون لیپیدی غشاء با افزایش ظرفیت سلول‌ها برای حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن و کاهش تنفس میوه‌ها باشد.

مواد جامد محلول

کاربرد اسیدآسکوربیک و کلسیم کلرید تأثیر معنی‌داری بر محتوای مواد جامد محلول میوه داشت (جدول ۲). با توجه به نتایج، میوه‌های برداشت شده در مرحله قرمز رنگ، مواد جامد محلول بیشتری داشتند و کاربرد کلسیم کلرید و اسیدآسکوربیک تأثیر مثبت بر مقدار مواد جامد محلول میوه نشان دادند (شکل ۲). به طوری که کاربرد اسیدآسکوربیک ۳۰۰ میلی گرم در لیتر و کلسیم ۰/۹ درصد در میوه‌های قرمز رنگ باعث افزایش ۲۷/۳ درصد مقدار مواد جامد محلول کل میوه در مقایسه با شاهد شد.

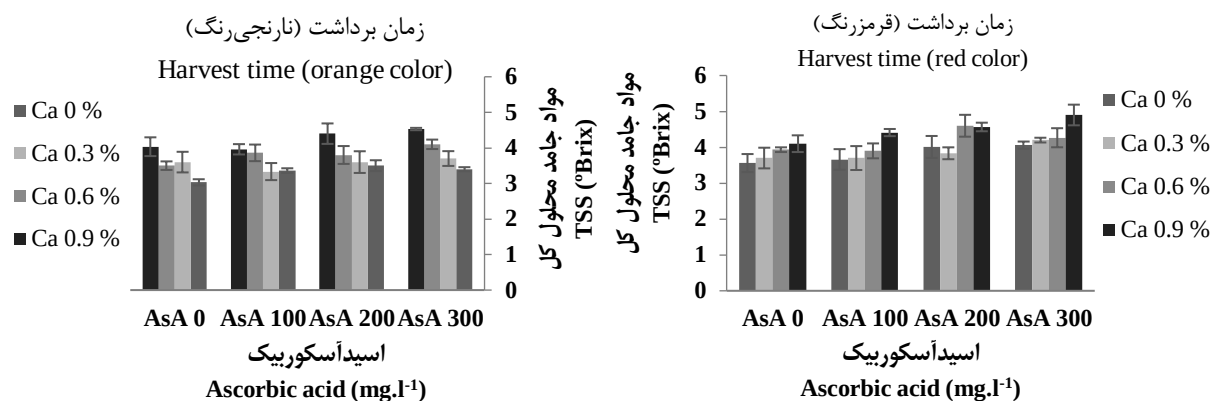
کیفیت تغذیه‌ای میوه گوجه فرنگی تحت تأثیر شرایطی که گیاه گوجه فرنگی رشد می‌کند و مرحله رسیدن میوه در زمان برداشت قرار دارد. میوه‌هایی که در مرحله اول بلوغ برداشت شدند در مقایسه با میوه‌هایی که در مرحله رسیده کامل برداشت شدند، مواد جامد محلول کمتری داشتند (Kacjan et al., 2011). با توجه به بررسی‌های انجام شده، اثر کلسیم بر مواد جامد محلول متغیر است، به طوری که گزارش شد تیمار پس از برداشت کلسیم کلرید دو درصد، تأثیر معنی‌داری بر افزایش مواد جامد محلول میوه از گیل ژاپنی (*Mespilus germanica* L.) داشته است (Akhtar et al., 2010). محلول پاشی برگی کلسیم کلرید ۰/۶ درصد همراه با بوراکس در گوجه فرنگی موجب افزایش مقدار مواد جامد محلول کل میوه شد (Rab & Haq, 2012). گزارش شده است که تیمار کلسیم کلرید در گوجه فرنگی تأثیر معنی‌داری بر مقدار مواد جامد محلول کل میوه نداشت، ولی در غلظت‌های بالا (۱/۵ و ۲ درصد) تا حدودی باعث کاهش مقدار مواد جامد محلول شد (Mazumder et al., 2021). کاربرد کلسیم لاکتات ۱/۵ گرم در لیتر، در کاهو (*Lactuca sativa* L.) باعث افزایش مواد جامد محلول گردید. کلسیم باعث کاهش سرعت تنفسی و جلوگیری از فرآیند تجزیه و شکستن کربوهیدرات‌ها شده و این حالت باعث حفظ مواد جامد محلول میوه‌ها و سبزی‌ها می‌شود (Khani et al., 2020). تفاوت در محتوای مواد جامد محلول میوه گیاهان تیمار شده با کلسیم در زمان برداشت نشان‌دهنده اثرات کلسیم بر تجمع کربوهیدرات در میوه‌ها بود که پتانسیل متفاوتی بر تنفس و در نتیجه، انبارمانی میوه‌ها داشت (Barzegar et al., 2018). گزارش شده است که تیمار اسیدآسکوربیک با غلظت ۳۰۰ میلی گرم در لیتر بیشترین تأثیر را بر محتوای مواد و جامد محلول میوه فلفل دلمه‌ای داشت (Fateh et al., 2019). محلول پاشی اسیدآسکوربیک باعث افزایش مواد جامد محلول در میوه‌های فلفل شیرین شد (Mohammed, 2013). افزایش میزان مواد جامد محلول و قند کل با محلول پاشی اسیدآسکوربیک روی میوه‌های گلابی (*Pyrus communis* L.) گزارش شده است (Hafez et al., 2010).

اسیدیته (pH) و اسید قابل تیتراسیون (TA)

شکل ۳، اثر محلول پاشی اسیدآسکوربیک و کلسیم کلرید و زمان برداشت را بر میزان اسیدیته و اسید قابل تیتراسیون میوه‌های گوجه فرنگی نشان می‌دهد. میزان اسیدیته در میوه‌های نارنجی و قرمز رنگ شاهد تیمار نشده تفاوت معنی‌داری نداشت، ولی در گیاهان محلول پاشی شده با اسیدآسکوربیک و کلسیم کلرید، مقدار اسیدیته در میوه نارنجی رنگ به طور معنی‌داری بیشتر از میوه‌های قرمز بود. محلول پاشی اسیدآسکوربیک میزان اسیدیته میوه را کاهش داد. حداقل اسیدیته در میوه‌های قرمز رنگ حاصل از گیاهان تحت محلول پاشی

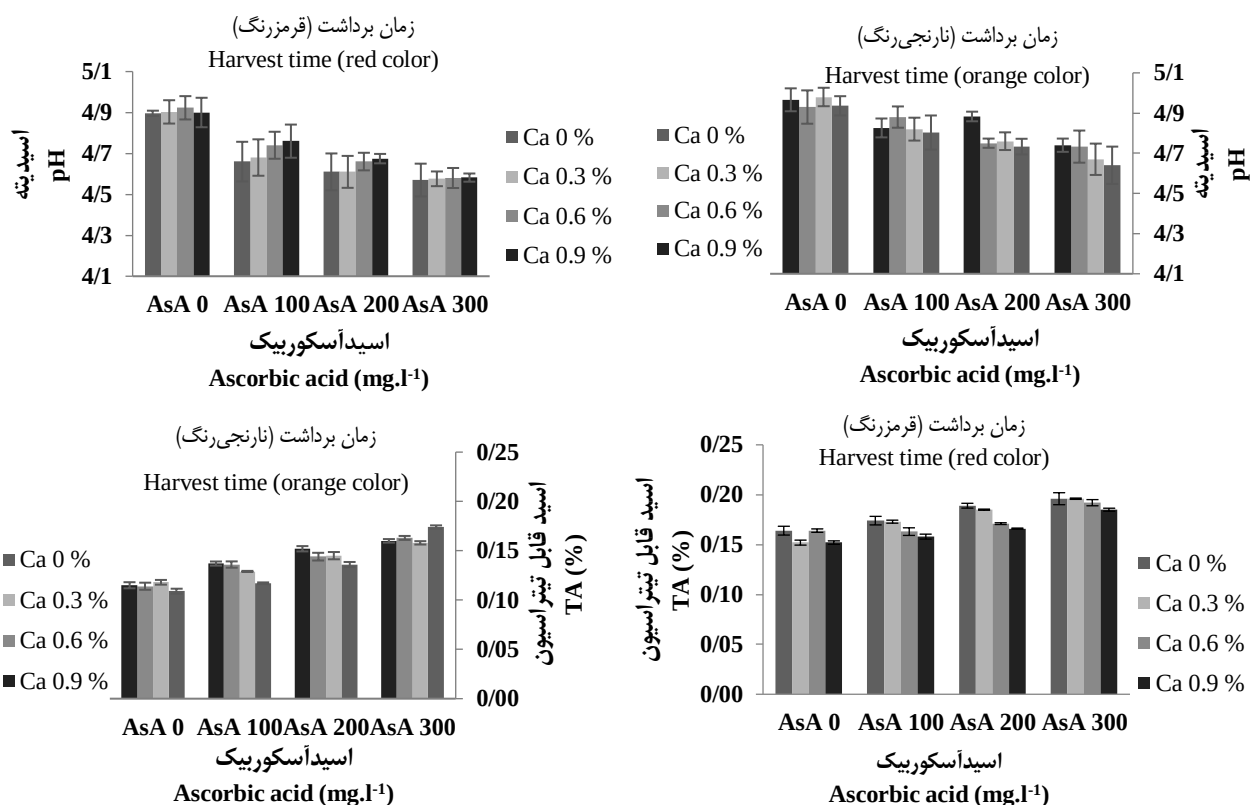
اسیدآسکوربیک ۳۰۰ میلی گرم در لیتر در میوه‌های قرمز رنگ، اسید قابل تیتراسیون را ۲۲/۵ درصد در مقایسه با میوه گیاهان تحت تیمار اسیدآسکوربیک صفر و کلسیم کلرید ۰/۹ درصد کاهش داد (شکل ۳).

اسیدآسکوربیک ۳۰۰ میلی گرم در لیتر و تمامی سطوح کلسیم کلرید حاصل شد (شکل ۳). برعکس میزان اسید قابل تیتراسیون در میوه‌های قرمز رنگ بیشتر از میوه‌های نارنجی بود و کاربرد اسیدآسکوربیک، میزان اسید قابل تیتراسیون میوه را افزایش داد. تیمار



شکل ۲- اثر متقابل محلول پاشی اسیدآسکوربیک × کلسیم کلرید بر مواد جامد محلول میوه‌های گوجه‌فرنگی برداشت شده در دو مرحله قرمز و نارنجی رنگ

Figure 2- The interaction effect of foliar spray of ascorbic acid (AsA) × calcium chloride (Ca) on the total soluble solids (TSS) content of tomato fruits harvested at two red and orange stages (DMRT, $p \leq 0.05$)



شکل ۳- اثر متقابل محلول پاشی اسیدآسکوربیک × کلسیم کلرید بر اسیدیته و اسید قابل تیتراسیون میوه‌های گوجه‌فرنگی برداشت شده در دو مرحله قرمز و نارنجی رنگ

Figure 3- The interaction effect of foliar spraying of ascorbic acid (AsA) × calcium chloride (Ca) on pH and titratable acidity (TA) of tomato fruits harvested at two red and orange stages (DMRT, $p \leq 0.05$)

بیشترین مقدار اسیدیت را در میوه کنار هندی (*Ziziphus mauritiana*) نشان دادند (Bandari et al., 2018).

ویتامین ث

بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس، اختلاف معنی داری در سطح احتمال یک درصد بین تیمارهای اسیدآسکوربیک و کلسیم کلرید و زمان برداشت از نظر میزان ویتامین ث وجود داشت (جدول ۳). با توجه به نتایج، از نظر مقدار ویتامین ث بین میوه‌های شاهد تیمار نشده در دو مرحله برداشت تفاوت معنی داری مشاهده نشد، ولی تیمار با اسیدآسکوربیک و کلسیم کلرید باعث افزایش معنی دار ویتامین ث در میوه‌های برداشت شده در مرحله قرمز رنگ گردید (شکل ۴). محلول-پاشی اسیدآسکوربیک ۳۰۰ میلی گرم در لیتر و کلسیم ۰/۹ در میوه‌های برداشت شده در مرحله قرمز رنگ به ترتیب باعث افزایش ۵۳/۷ و ۵۶/۲ درصد محتوای ویتامین ث در مقایسه با میوه‌های قرمز و نارنجی گیاهان شاهد گردید (شکل ۴).

اسیدیت قابل تیتراسیون مربوط به غلظت اسیدهای آلی (عمدتاً اسیدسیتریک) موجود در میوه‌ها به صورت اسید آزاد، آنیون یا ترکیب شده به صورت نمک است که در طول رسیدن تحت تأثیر فرایند تنفس و تبدیل آن‌ها به قند کاهش می‌یابد (Cheng et al., 2017). اسیدآسکوربیک به علت ماهیت اسیدی و با تأخیر در فرایند تنفس باعث افزایش و حفظ اسیدیت کل قابل تیتراسیون گردید (Elahviren, 2016). گزارش شده است که در گیاه فلفل، استفاده از اسیدآسکوربیک و کلسیم تأثیر مثبت قابل توجهی در اسیدیت و اسید قابل تیتراسیون داشته است (Barzegar et al., 2018). بررسی حاضر نشان داد که اسید قابل تیتراسیون هیچ تفاوت معنی داری بین سطوح کلسیم کلرید نشان نداد. با این حال، سطوح بالاتر باعث کاهش جزئی در اسید قابل تیتراسیون شد (شکل ۳) و الگوی مشابهی از نتایج توسط مازومدر و همکاران (Mazumder et al., 2021) به دست آمد که بیان داشتند، کلسیم کلرید دو درصد به طور مؤثر اسیدیت میوه‌های گوجه فرنگی را کاهش داد که نشان دهنده کاهش نرخ تنفس است. گزارش شده است که استفاده از کلسیم کلرید ۰/۵ و ۱/۵ درصد

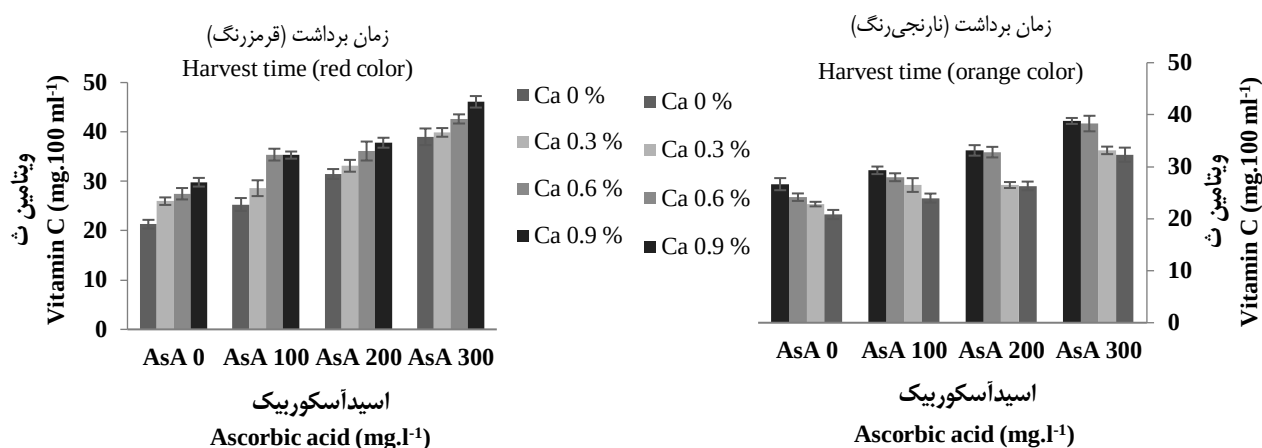
جدول ۳- تجزیه واریانس اثر محلول پاشی کلسیم کلرید و اسیدآسکوربیک روی برخی صفات کیفی میوه‌های گوجه فرنگی برداشت شده در دو مرحله قرمز و نارنجی رنگ

Table 3- ANOVA for the effect of foliar application of calcium chloride and ascorbic acid on some qualitative traits of tomato fruits harvested at two red and orange stages

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	ویتامین ث Vitamin C	فلاونوئید Flavonoid	فنل کل Total phenol	ظرفیت آنتی اکسیدانی Antioxidant capacity
بلوک Block	2	32.75	0.055	8.59	11.19
اسیدآسکوربیک Ascorbic acid (AsA)	3	198.86**	3.38**	16.64*	105.21**
کلسیم کلرید Calcium chloride (Ca)	3	155.11**	3.71**	35.82*	56.02**
زمان برداشت Harvest time	1	57.36**	8.70**	25.48**	3.027**
اسیدآسکوربیک × کلسیم کلرید AsA × Ca	9	175.68**	5.087**	28.70**	32.40*
اسیدآسکوربیک × زمان برداشت AsA × harvest time	3	54.81**	2.23**	44.66**	16.43**
کلسیم کلرید × زمان برداشت Ca × harvest time	3	1.73*	0.157*	6.27**	35.70**
اسیدآسکوربیک × کلسیم کلرید × زمان برداشت AsA × Ca × harvesting time	9	91.44**	6.76**	24.91**	53.42**
خطای کرت اصلی Main plot error	62	2.53	0.074	0.827	2.032
ضریب تغییرات C.V. (%)	—	5.30	7.99	4.85	6.0007

ns, *, **: به ترتیب عدم معنی داری، و معنی دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

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



شکل ۴- اثر محلول پاشی اسیدآسکوربیک و کلسیم کلرید بر مقدار ویتامین ث میوه‌های گوجه‌فرنگی برداشت شده در دو مرحله قرمز و نارنجی‌رنگ
Figure 4- The effect of foliar spraying of ascorbic acid (AsA) and calcium chloride (Ca) on vitamin C content of tomato fruits harvested at two red and orange stages (DMRT, $p \leq 0.05$)

محتوای فنل و فلاونوئید کل

نتایج به‌دست آمده نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای کلسیم کلرید و اسیدآسکوربیک و زمان برداشت از نظر مقدار فنل و فلاونوئید مشاهده شد (جدول ۳). مقدار فنل کل و فلاونوئید در میوه‌های قرمز رنگ تفاوت معنی‌داری با میوه‌های نارنجی نداشت و محلول پاشی برگ‌ی اسیدآسکوربیک و کلسیم کلرید موجب افزایش محتوای فنل و فلاونوئید در میوه‌ها شدند (شکل ۵). بیشترین مقدار فنل (۲۵/۷۴ و ۲۵/۰۷ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر) و فلاونوئید (۵/۲ و ۴/۷ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر) در میوه‌های قرمز رنگ تیمار شده با اسیدآسکوربیک ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر و کلسیم کلرید ۰/۹ و ۰/۶ درصد حاصل شد، به‌طوری‌که موجب افزایش ۴۵ درصدی محتوای فنل و ۶۵ درصدی محتوای فلاونوئید در مقایسه با میوه‌های قرمز شاهد شدند (شکل ۵).

میوه‌ها و سبزی‌ها منبع بسیار عالی از مواد آنتی‌اکسیدانی مانند فنل و فلاونوئید هستند (Takahashi & Badger., 2011). ترکیبات فنلی به‌دلیل نقش آن‌ها در کیفیت تغذیه‌ای میوه‌ها و سبزیجات مانند رنگ، تلخی و طعم مهم هستند (Vinson et al., 2001). نتایج این پژوهش با نتایج مازومدر و همکاران (Mazumder et al., 2021) تطابق دارد که گزارش کردند مقدار ترکیبات فنولیک کل در گوجه‌فرنگی با توسعه بلوغ میوه از مرحله سبز بالغ تا قرمز رنگ افزایش یافت و کاربرد کلسیم کلرید دو درصد در مقایسه با غلظت‌های پایین‌تر باعث افزایش محتوای ترکیبات فنلی شد. کلسیم با حفظ استحکام دیواره سلولی و کاهش رادیکال‌های آزاد باعث کاهش اکسیداسیون فنل‌ها و فلاونوئیدها می‌شود (Kou et al., 2015). افزایش محتوای فنل کل و فلاونوئیدها در میوه محلول پاشی شده با اسیدآسکوربیک

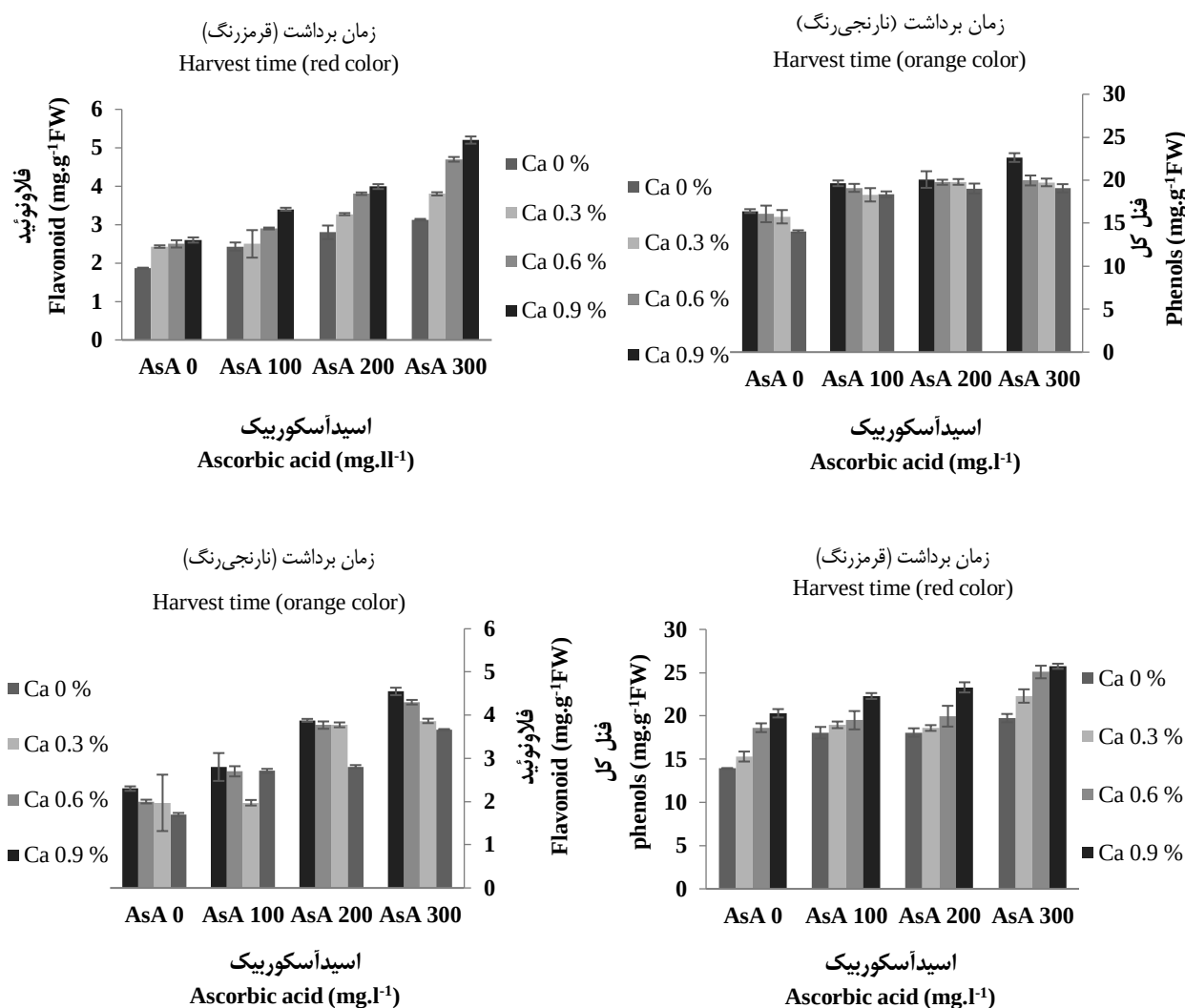
ویتامین ث جزء مواد آنتی‌اکسیدانی غیرآنژیومی در گیاه است که نسبت به دیگر مواد آنتی‌اکسیدانی به‌دلیل اکسیداسیون، خیلی حساس به تجزیه می‌باشند. این ویتامین در مدت رسیدگی میوه و سبزی بر اثر فعالیت آنزیم‌های پلی‌فنل اکسیداز و آسکوربیک اکسیداز تجزیه شده و مقدار آن کاهش می‌یابد (Wang et al., 2013). تیمار کلسیم موجب حفظ مواد آنتی‌اکسیدانی مانند ویتامین ث، فنل و فلاونوئید کل می‌شود. تیمار کلسیم با کاهش تولید و تخریب رادیکال‌های آزاد باعث حفظ مواد آنتی‌اکسیدانی مانند ویتامین ث در ازگیل ژاپنی نسبت به شاهد شده است (Akhtar et al., 2010). خانی و همکاران (Khani et al., 2019) گزارش کردند که کاربرد لاکتات کلسیم ۱/۵ گرم در لیتر، باعث افزایش ویتامین ث در کاهو رقم (رد نیو فایر) شده است. طبق آزمایشات به‌دست آمده، میزان ویتامین ث در فلفل با تیمار محلول پاشی کلسیم افزایش یافت (Barzegar et al., 2018). در تحقیقی، مقدار ویتامین ث در میوه‌های گوجه‌فرنگی محلول پاشی شده با کلسیم کلرید ۱/۵ درصد، در مقایسه با غلظت‌های بالاتر و پایین‌تر کلسیم کلرید و شاهد افزایش یافت (Mazumder et al., 2021). اسیدآسکوربیک به‌عنوان یک ترکیب آلی و آنتی‌اکسیدان، یک ویتامین ضروری است که می‌تواند از میوه‌ها و سبزی‌ها حاصل شود. نتایج حاصل با نتایج دیگر پژوهش‌ها مطابقت دارد، آن‌ها گزارش کردند که کاربرد اسیدآسکوربیک به‌طور معنی‌داری مقدار ویتامین ث را در میوه آلو افزایش داد (Liu et al., 2014). گزارش شده است که محلول پاشی برگ‌ی اسیدآسکوربیک، مقدار ویتامین ث را در فلفل دلمه‌ای افزایش داد (Mohammed., 2013). همچنین گزارش شده است که محلول پاشی برگ‌ی اسیدآسکوربیک ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر در مقایسه با غلظت‌های پایین‌تر و گیاهان شاهد، مقدار ویتامین ث را در فلفل دلمه‌ای افزایش داد (Fateh et al., 2019).

۳). ظرفیت آنتی اکسیدانی میوه‌های قرمز رنگ بیشتر از میوه‌های نارنجی رنگ بود. همچنین کاربرد برگی اسید آسکوربیک و کلسیم کلرید منجر به افزایش معنی دار ظرفیت آنتی اکسیدانی میوه شد (شکل ۶). بیشترین ظرفیت آنتی اکسیدانی میوه (۳۶/۲ و ۳۵/۳ درصد) به ترتیب در محلول پاشی اسید آسکوربیک ۳۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر و کلسیم کلرید ۰/۹ درصد در میوه‌های قرمز رنگ مشاهده شد که به ترتیب باعث افزایش ۴۵/۳ و ۴۳/۹ درصد ظرفیت آنتی اکسیدانی میوه در مقایسه با میوه‌های قرمز شاهد شد (شکل ۶).

۳۰۰ میلی گرم در لیتر، می‌تواند به نقش اسید آسکوربیک به عنوان یک آنتی اکسیدان در غلظت بالا مرتبط باشد (Youwei & Yinzhe, 2013). مقدار فلاونوئید در میوه‌های نارس به مراتب بیشتر از مقدار آن در میوه‌های کاملاً رسیده است (Ainuddin & Hajilo, 2016).

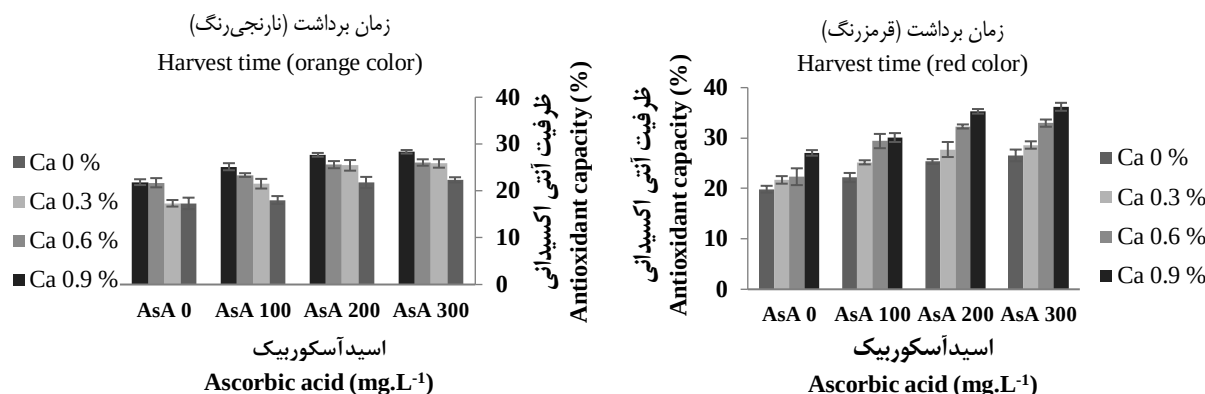
ظرفیت آنتی اکسیدانی (DPPH) برگ

با توجه به نتایج، برهم کنش تیمارهای اسید آسکوربیک، کلسیم کلرید و زمان برداشت تأثیر معنی داری بر ظرفیت آنتی اکسیدانی داشتند (جدول



شکل ۵- اثر متقابل محلول پاشی اسید آسکوربیک × کلسیم کلرید بر محتوای فنل و فلاونوئید کل میوه‌های گوجه فرنگی برداشت شده در دو مرحله قرمز و نارنجی رنگ

Figure 5- The interaction effect of foliar spraying of ascorbic acid (AsA) × calcium chloride (Ca) on the total phenol and flavonoid contents of tomato fruits harvested at two red and orange stages (DMRT, $p \leq 0.05$)



شکل ۶- اثر متقابل محلول پاشی اسیدآسکوربیک × کلسیم کلرید بر ظرفیت آنتی اکسیدانی میوه‌های گوجه‌فرنگی برداشت شده در دو مرحله قرمز و نارنجی‌رنگ

Figure 6- The interaction effect of foliar spraying of ascorbic acid (AsA) × calcium chloride (Ca) on the antioxidant capacity of tomato fruits harvested at two red and orange stages (DMRT, $p \leq 0.05$)

رادیکال‌های آزاد اکسیژن شد (Rababah et al., 2005). همان‌طور که نتایج نشان می‌دهد، کاربرد کلسیم کلرید و اسیدآسکوربیک با افزایش محتوای فنل کل فلاونوئید و ویتامین ث منجر به افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی میوه گوجه‌فرنگی شد.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج، شاخص‌های کیفی و فیزیولوژیکی گیاه گوجه‌فرنگی به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر قرار گرفتند. اثر برهم‌کنش اسیدآسکوربیک و کلسیم کلرید به‌خصوص در غلظت‌های بالاتر باعث افزایش سفتی بافت میوه، مواد جامد محلول، ویتامین ث و فعالیت‌های آنتی اکسیدانی و کاهش اسیدیته و در نتیجه، باعث افزایش اسید قابل تیتراسیون شد. کاربرد کلسیم به‌طور معنی‌داری سفتی بافت میوه را بهبود بخشید و بیشترین سفتی در میوه‌های نارنجی‌رنگ در زمان برداشت مشاهده شد. بنابراین، با توجه به نتایج، کاربرد اسیدآسکوربیک ۳۰۰ میلی گرم در لیتر و کلسیم کلرید ۰/۹ درصد جهت بهبود رشد، کیفیت، شاخص‌های فیزیولوژیکی و عملکرد پیشنهاد می‌گردد.

رابطه‌ای مثبت و قوی بین ظرفیت آنتی اکسیدانی، محتوای فلاونوئید و فنل کل و ویتامین ث گزارش شده است که به نظر می‌رسد در بسیاری از گونه‌های گیاهی این رابطه برقرار باشد (Farhodi et al., 2017). میوه‌های خربزه درختی (*Carica papaya* L.) تیمار شده با کلسیم، بالاترین میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی را نسبت به شاهد نشان دادند (Madani et al., 2014). در گیاهان گوجه‌فرنگی محلول پاشی شده با کلسیم کلرید دو درصد، فعالیت آنتی اکسیدانی میوه نسبت به شاهد و غلظت‌های پایین‌تر افزایش معنی‌داری نشان داد (Mazumder et al., 2021). نتایج این آزمایش با نتایج خانی و همکاران (Khani et al., 2019) هم‌خوانی دارد که بیان داشتند، کاربرد کلسیم فعالیت آنتی اکسیدانی کاهو را افزایش داد. در بین آنتی اکسیدان‌ها، اسیدسیتریک و اسیدآسکوربیک در میوه‌ها به‌صورت گسترده به‌منظور جلوگیری از فرآیند قهوه‌ای شدن و کاهش جمعیت میکروب‌ها استفاده می‌شود (Jalili Marandi & Shafaei, 2015). اسیدآسکوربیک از مهم‌ترین آنتی اکسیدان‌های غیرآزمی با وزن مولکولی پایین است که در فرآیندهای رشدی و نمو گیاه نقش بارزی بر عهده دارد (Wang et al., 2013). تیمار میوه‌های توت‌فرنگی، سیب و هلو با اسیدآسکوربیک باعث افزایش ترکیبات فنلی و ظرفیت جذب

References

- 1- Ainuddin, M.S., & Hajilo, J. (2016). Effect of post-harvest application of methyl jasmonat on qualitative traits and storage life of strawberry cv. 'Camarosa'. *Journal of Food Industry Research*, 26(2), 287-286. (In Persian with English abstract)
- 2- Akhtar, A., Abbasi, N.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.
- 3- Ashibur Rahman, M., Zakaria, M., Baset Mia, M.A., & Sanaullah Biswas, M.D. (2021) Ascorbic acid influences on growth and yield of tomato. *Annals of Bangladesh Agriculture*, 25(1), 55-65. <https://doi.org/10.3329/aba.v25i1.58155>
- 4- Bandari, F.S., Rastegar, S., & Ghasemi, M. (2018). The effect of preharvest application of calcium chloride, putrescine and salicylic acid on some quality and quantity characters of Hindi ber (*Ziziphus mauritiana*

- khormaeae). *Journal of Horticulture Science*, 32(2), 227-237. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22067/jhorts4.v32i2.58482>
- 5- Barzegar, T., Fateh, M., & Razavi, F. (2018). Enhancement of postharvest sensory quality and antioxidant capacity of sweet pepper fruits by foliar applying calcium lactate and ascorbic acid. *Scientia Horticulturae*, 241, 293-303. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.07.011>
- 6- Buczkowska H., Michalajc, Z., & Nurzynska-Wierdak, R. (2016). Yield and fruit quality of sweet pepper depending on foliar application of calcium. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 40(2), 222-228. <https://doi.org/10.3906/tar-1501-56>
- 7- Cheng, H.M., Koutsidis, G., Lodge, J.K., Ashor, A., Siervo, M., & Lara, J. (2017). Tomato and lycopene supplementation and cardiovascular risk factors: A systematic review and meta-analysis. *Atherosclerosis*, 257, 100-108. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2017.01.009>
- 8- Cooper, T., Gargiulo, S., Streif, J., & Retamales, J. (2007). Effect of calcium content and calcium application on softening of Hayward kiwifruit. *Acta Horticulturae*, 753, 297-304. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2007.753.37>
- 9- Dehghan, G., & Khoshkam, Z. (2012). Tin (II)-quercetin complex synthesis, spectral characterization and antioxidant activity. *Food Chemistry*, 131, 422-427. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.08.074>
- 10- Elahviren Osalu, A., Farrokhzad, A.R., & Asghari, M.R. (2016). Effect of foliar spray with ascorbic acid on some qualitative characteristics and improving color of apple fruit (*Malus domestica* cv. Red Spur). *Plant Productions*, 39(3), 113-125. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22055/ppd.2016.12062>
- 11- El-Banna, E.A., & Abd, E.S.H. (2006). Effect of foliar application with organic compounds on growth yield and tubers quality of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Journal of Agricultural Science Mansoura University*, 31(2), 1165-1173. <https://doi.org/10.21608/jssae.2006.236943>
- 12- El-Katatny, M.H., & Emam, A.S. (2012). Control of postharvest tomato rot by spore suspension and antifungal metabolites of *Trichoderma harzianum*. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 2021, 1505-1528.
- 13- El-Shazly, S.M., Eisa, A.M., Moatamed, A. M.H., & Kotb, H.R.M. (2013). Effect of some agro-chemicals preharvest foliar application on yield and fruit quality of "swelling" peach trees. *Alexandria Journal of Agricultural Research* 58(3), 219-229.
- 14- Esfahani, Z., Barzegar, T., Ghahremani, Z., & Nikbakht, J. (2018). Effects of foliar application of Megafol on yield, fruit quality and water use efficiency of tomato Cv. Rio Grande under water deficit stress. *Journal of Crops Improvement*, 19(4), 995-1009. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22059/jci.2018.210332.1472>
- 15- Farhoudi, R., Mehrnia, M.A., & Lee, D.J. (2017). Antioxidant activities and bioactive compounds of five Jalopeno pepper (*Capsicum annuum*) cultivars. *Natural Product Research*, 6, 1-4. <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1410801>
- 16- Fateh, M., Barzegar, T., & Razavi, F. (2019). The effect of foliar application of ascorbic acid and calcium lactate on growth, yield and fruit quality of sweet pepper. *Journal of Horticulture Science*, 33(1), 79-87. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22067/jhorts4.v33i1.70145>
- 17- Fenech, M., Amaya, I., Valpuesta, V., & Botella, M.A. (2019). Vitamin C content in fruits: Biosynthesis and regulation. *Frontier in Plant Science*, 9, 2006. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.02006>
- 18- Hafez, O.M., Hamouda, H.A., & Abd- El- Mageed, M.A. (2010). Effect of calcium and some antioxidants treatments on storability of "Le- Conte" pear fruits and its volatile components. *Nature and Science*, 8(5), 109-126.
- 19- Jalili Marandi, R. (2012). *Postharvest Physiology (Handling and Storage of Fruits, Vegetables and Ornamental Plants)*. Publishers Jihad Urmia University, Urmia, Iran. (2nd Ed.). p 276.
- 20- Jalili Marandi, R., & Shafaei, Z. (2015). Effect of postharvest treatments of citric acid and salicylic acid on quality attributes of pear cv. Sardrod fruit during storage. *Journal of Plant Productions*, 38(1), 131-143. <https://doi.org/10.22055/ppd.2015.11137>
- 21- Kacjan, M.N., Gašperlin, L., Abram, V., Budič, M., & Vidrih, R. (2011). Quality parameters and total phenolic content in tomato fruits regarding cultivar and microclimatic conditions. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 35, 185-194. <https://doi.org/10.3906/tar-0910-499>
- 22- Kaijv, M., Sheng, L., & Chao, C. (2006). Antioxidation of flavonoids of green rhizome. *Food Science and Technology*, 27, 110-115.
- 23- 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>
- 24- Khani, A., Barzegar, T., Nikbakht, J., & Ghahremani, Z. (2019). Effect of foliar spray of calcium lactate on physiological characteristics, antioxidant activity and yield of lettuce (*Lactuca sativa* L.) under deficit irrigation. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 50(3), 649-665. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22059/ijhs.2018.259323.1456>

- 25- Kou, L. (2015). Effects of pre- and postharvest calcium treatments on shelf life and postharvest quality of broccoli microgreens. *Horticultural Science*, 50(12), 1801-1808. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.50.12.1801>
- 26- Kou, L., Yang, T., Liu, X., & Luo, Y. (2015). Effects of pre-and postharvest calcium treatments on shelf life and postharvest quality of broccoli microgreens. *Horticultural Science*, 50(12), 1801-1808. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.50.12.1801>
- 27- Liu, K., Yuan, C., Chen, Y., Li, H., & Liu, J. (2014). Combined effects of ascorbic acid and chitosan on the quality maintenance and shelf life of plums. *Scientia Horticulturae*, 176, 45-53. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2014.06.027>
- 28- Madani, B., Muda Mohamed, M.T., Biggs, A.R., Kadir, J., Awang, Y., Tayebimeigooni, A., & Shojaei, T.R. (2014). Effect of pre-harvest calcium chloride applications on fruit calcium level and post-harvest anthracnose disease of papaya. *Crop Protection*, 55, 55-60. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2013.10.009>
- 29- Mazumder, M.N.N., Misran, A., Ding, P., Wahab, P.E.M., & Mohamad, A. (2021). Preharvest foliar spray of calcium chloride on growth, yield, quality, and shelf life extension of different Lowland tomato varieties in Malaysia. *Horticulturae*, 7(11), 466. <https://doi.org/10.3390/horticulturae7110466>
- 30- Minutolo, M., Chiaiese, P., Di Matteo, A., Errico, A., & Corrado, G. (2020). Accumulation of ascorbic acid in tomato cell culture: Influence of the genotype, source explant and time of *in vitro* cultivation. *Antioxidants*, 9(3), 222. <https://doi.org/10.3390/antiox9030222>
- 31- Mohammed, G.H. (2013). Effect of seamino and ascorbic acid on growth, yield and fruits quality of pepper (*Capsicum annum* L.). *International Journal of Pure and Applied Sciences and Technology*, 17(2), 9-16.
- 32- Mostofi, Y., & Najafi, F. (2014). Analytical laboratory methods in horticultural sciences. Tehran University Press, Tehran, Iran. 136 p. (In Persian)
- 33- Najafi, R., & Barzegar, T. (2022). The effect of foliar spray of different calcium sources on antioxidant properties and quality of cauliflower (*Brassica oleracea* cv. botrytis 'Romanesco'). *Journal of Horticultural Science*, 36(3), 577-589. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22067/jhs.2021.70150.1047>
- 34- Niazi, H., Barzegar, T., Ghahremani, Z., & Nadirkhanlou, L. (2021). Effect of light duration and calcium on growth, yield and quality of lettuce (*Lactuca sativa* cv. New Red Fire). *Journal of Vegetables Sciences*, 2, 111-131. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22034/iuvs.2021.521006.1135>
- 35- Nizamani, S., Khaskheli, A.A., Jiskani, A.M., Khaskheli, S.A., Khaskheli, A.J., Poussio, G.B., Jamro, H.R., & Khaskheli, M.I. (2020). Isolation and identification of the fungi causing tomato fruit rot disease in the vicinity of Tandojam, Sindh. *Agricultural Science Digest-A Research Journal*, 269, 186-190. <https://doi.org/10.18805/ag.D-269>
- 36- Patane, C., Pellegrino, A., & Di Silvestro, I. (2018). Effects of calcium carbonate application on physiology, yield and quality of field-grown tomatoes in a semi-arid Mediterranean climate. *Crop and Pasture Science*, 69, 411-418. <https://doi.org/10.1071/CP17424>
- 37- Rab, A., & Haq, I.U. (2012). Foliar application of calcium chloride and borax influences plant growth, yield, and quality of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) fruit. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 36(6), 695-701. <https://doi.org/10.3906/tar-1112-7>
- 38- Rababah, T., Ereifej, K., & Howard, L. (2005). Effect of ascorbic acid and dehydration on concentrations of total phenolics, antioxidant capacity, anthocyanins and color in fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 4444-4447. <https://doi.org/10.1021/jf0502810>
- 39- Rubio, J.S., Garcia-Sanchez, F., Rubio, F., & Martinez, V. (2009). Yield, blossom-end rot incidence, and fruit quality in pepper plants under moderate salinity are affected by K⁺ and Ca²⁺ fertilization. *Journal of Horticultural Sciences*, 119, 79-87. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2008.07.009>
- 40- Sabir, F.K., & Agar, I.T. (2011). Influence of different concentrations of 1-methylcyclopropene on the quality of tomato harvested at different maturity stages. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 34, 111-118. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4529>
- 41- Sarwat, M., Ahmad, P., Nabi, G., & Hu, X. (2013). Ca²⁺ signals: The versatile decoders of environmental cues. *Critical Reviews in Biotechnolgy*, 33, 97-109. <https://doi.org/10.3109/07388551.2012.672398>
- 42- Singh, R., Sharma, R.R., & Tyagi, S.K. (2007). Per-harvest foliar application of calcium and boron influences physiological disorder, fruit yield and quality of strawberry (*Fragaria×ananassa* Duch.). *Scientia Horticulturae*, 112, 215-220. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2006.12.019>
- 43- Singleton, V.L., & Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *Enology and Viticulture*, 16, 144-15.
- 44- Smirnoff, N. (2011). Vitamin C, the metabolism and functions of ascorbic acid in plants. *Advances in Botanical Research*, 59, 107-77. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385853-5.00003-9>
- 45- Takahashi, S., & Badger, M.R. (2011). Photoprotection in plants: A new light on photosystem II damage. *Trends in Plant Science*, 16(1), 53-60. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2010.10.001>

- 46- Tolasa, M., Gedamu, F., & Woldetsadik, K. (2021). Impacts of harvesting stages and pre-storage treatments on shelf life and quality of tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *Cogent Food and Agriculture*, 7(1), 1863620. <https://doi.org/10.1080/23311932.2020.1863620>
- 47- Vinson, J.A., Su, X., Zubik, L., & Bose, P. (2001). Phenol antioxidant quantity and quality in foods: Fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 5315–5321. <https://doi.org/10.1021/jf0009293>
- 48- Wang, J., Zhang, Z., & Huang, R. (2013). Regulation of ascorbic acid synthesis in plants. *Plant Signaling and Behavior*, 8(6), e24536-3. <https://doi.org/10.4161/psb.24536>
- 49- Youwei, Y., & Yinzhe, R. (2013). Grape preservation using chitosan combined with β -cyclodextrin. *International Journal of Agronomy*, 4, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2013/209235>

Effect of Chemical and Hand thinning on the Fruit Biochemical Properties of 'Khadrawi' Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.) during Fruit Development

M. Jalali¹, N. Moallemi^{2*}, E. Khaleghi², S. Zivdar³, M. Rahmati-Joneidabad⁴

1, 2 and 3- Ph.D. Graduate, Professor and Assistant Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran, respectively

(*- Corresponding Author Email: n.moallemi@scu.ac.ir)

4- Associate Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran

Received: 12-04-2024	How to cite this article: Jalali, M., Moallemi, N., Khaleghi, E., Zivdar, Sh., & Rahmati Jonidabad, M. (2024). Effect of chemical and hand thinning on the fruit biochemical properties of 'Khadrawi' date palm (<i>Phoenix dactylifera</i> L.) during fruit development. <i>Journal of Horticultural Science</i> , 38(4), 655-673. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jhs.2024.87570.1337
Revised: 29-05-2024	
Accepted: 01-06-2024	
Available Online: 01-06-2024	

Introduction

The date palm (*Phoenix dactylifera* L.) tree tolerate high temperatures, drought and salinity more than other fruit crop, that is why date palm tree is named the tree of life in the desert. Date palm (*Phoenix dactylifera*) is one of the fruit tree crops that is cultivated in arid region of Middle East and North Africa having a significant role on the economy of many countries in these regions. Fruit thinning is one of the major operation for improving the quality of dates as also for other fruit trees. Quality of dates is improved by increasing fruit weight and size and regulating date palm production by reducing the magnitude of year to year production affecting the date palm. Date palm orchard operations include all operations that are repeated annually to produce date fruit. Alternate bearing is common phenomenon in date palms. The thinning is one of the main methods that often helps to solve this problem. The main purpose of thinning is to create a suitable balance and often to increase the leaf to cluster ratio. It is creating a balance between vegetative growth and flowering and reducing the possibility of aging in the alternate bearing. Fruit thinning is one of the necessary operations that affects the growth, quality, fruit yield and regulation of the alternate bearing of the tree. The thinning process is performed manually, mechanically and chemically. Therefore, choosing a thinning method that saves time and money is necessary for date palms, especially in critical situations. The purpose of this experiment was to investigate the effects of manual and chemical thinning on the qualitative characteristics of date fruit at different stages of development for the Khadrawi cultivar.

Materials and Methods

An experiment was carried out as factorial experiment based on randomized complete block design with 3 replications at Shahid Chamran University of Ahvaz in 2022 and 2023. The Experimental factors included: hand thinning (No hand thinning, removal of 33%, removal of 25% of the total number of strands) and chemical thinning (zero, 50 and 100 mg per liter of naphthalene acetic acid). Chemical and strand thinning were done in the Hubabok stage (about 4 weeks after pollination) and the Kimri stage (12 to 13 weeks after pollination), respectively. In two consecutive years, the fruits were transferred to the plant physiology laboratory of the Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz. The qualitative traits such as total soluble solids (%), pH, total acidity (%), taste index, antioxidant activity (%), total phenol (mg.g⁻¹ FW), total soluble tannin (mg.g⁻¹ FW), ascorbic acid (mg.g⁻¹ FW), poly-galacturonase enzymes (U.g⁻¹ FW), methyl pectin esterase (U.g⁻¹ FW), cellulase (U.g⁻¹ FW) and invertase (U.g⁻¹ FW) and the percentage of reducing (%), non-reducing (%) and total sugars (%) were measured.



Results and Discussion

The results of this experiment showed that in the Tamar Stage, the interaction of hand and chemical thinning improved the qualitative characteristics of the fruit and on the characteristics of soluble total tannin, polygalactronase activity, pectin-methylesterase and reducing and total sugars, and the effect of hand thinning on total and percentage phenol and Non-reducing sugar and chemical thinning had a significant effect on ascorbic acid and cellulase enzyme. The results showed that there was upward trend in amount of total soluble solids, pH, total acidity, taste index, poly-galactronase, pectin-methyl-esterase, cellulase and invertase enzymes and the reducing and total sugars from the Kimri to Tamar stage. Also, there was downward trend in amount of total phenol, total soluble tannin content, ascorbic acid, and non-reducing sugar percentage from the Kimri stage to the Tamar.

Conclusions

The Khadrawi date variety has short strands, which results in a significant density of fruits on the strands of a cluster, which leads to large changes between fruits in most of the biochemical properties and has a negative effect on marketability. Fruit thinning is one of the most important agronomic practices in groves, as it enhances the quality characteristics of the fruit. Although hand thinning is more expensive, time-consuming, and relatively more difficult than chemical thinning, our findings showed that the quality of date fruit from the Khadrawi cultivar improved with the removal of 25% of the total number of strands and with chemical thinning using 100 mg/liter of naphthalene acetic acid. These treatments are recommended for palm growers.

Keywords: Cellulose, Invertase, Naphthalene acetic acid, Pectin-methyl-esterase, Poly-galactronase

مقاله پژوهشی

جلد ۳۸، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۳، ص. ۶۷۳-۶۵۵

اثر تنک شیمیایی و دستی بر خصوصیات بیوشیمیایی میوه خرما (*Phoenix dactylifera* L.) رقم 'خضراوی' در طی نمو میوه

منصور جلالی^۱  - نوراله معلمی^{۲*}  - اسمعیل خالقی^۲ - شهره زیودار^۳ - مصطفی رحمتی جنیدآباد^۴ 

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۱/۲۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۱۲

چکیده

تنک میوه یکی از عملیات باغی محسوب می‌شود که بر خصوصیات کمی و کیفی میوه تأثیر می‌گذارد. به منظور بررسی اثر تنک دستی و شیمیایی بر خصوصیات بیوشیمیایی میوه خرما (*Phoenix dactylifera* L.) رقم 'خضراوی' در مراحل مختلف رشدونمو میوه، آزمایشی در دانشگاه شهید چمران اهواز در سال‌های متوالی ۱۴۰۱ و ۱۴۰۲ اجرا شد. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام گردید. تیمارهای آزمایش شامل تنک دستی (خوشه‌چه) (عدم تنک، حذف ۳۳ و ۲۵ درصد از خوشه‌چه‌ها در مرحله کیمری) و تنک شیمیایی (صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر نفتالین استیک اسید در مرحله حبابوک) بود. صفات کیفی اندازه‌گیری شده شامل درصد مواد جامد محلول کل، pH، درصد اسیدیته کل، شاخص طعم، میزان فعالیت آنتی اکسیدانی، فنل کل، میزان تانن محلول کل، اسیدآسکوربیک، آنزیم‌های پلی گالاکتروناز، پکتین متیل استراز، سلولاز و اینورتاز و درصد قندهای احیاء و غیراحیاء و کل میوه بودند. نتایج این آزمایش نشان داد که تنک دستی و شیمیایی باعث بهبود ویژگی‌های کیفی میوه (میزان فنل کل، تانن محلول کل، اسیدآسکوربیک، فعالیت آنزیم‌های پلی گالاکتروناز، پکتین متیل استراز و درصد قندهای احیاء و کل) در مرحله تمار گردیده و همچنین بر شاخص‌هایی نظیر مواد جامد محلول کل، pH و آنزیم‌های سلولاز و اینورتاز در مراحل خلال و رطب مؤثر بود. نتایج نشان داد که تغییرات صفات کیفی شامل مواد جامد محلول کل، pH، درصد اسیدیته کل، شاخص طعم، آنزیم‌های پلی گالاکتروناز، پکتین متیل استراز، سلولاز و اینورتاز و درصد قندهای احیاء و کل تا اواخر دوره رشد (از مرحله کیمری تا تمار) سیر صعودی داشتند. تغییرات روند رشد صفاتی نظیر فنل کل، میزان تانن محلول کل، اسیدآسکوربیک، و درصد قند غیراحیاء از مرحله کیمری تا مرحله تمار روند نزولی داشت. به طور کلی نتایج به دست آمده نشان داد که تیمار تنک دستی با حذف ۲۵ درصد از تعداد کل خوشه‌چه‌ها و تنک شیمیایی با ۱۰۰ میلی گرم در لیتر نفتالین استیک اسید، موجب بهبود کیفیت میوه خرما رقم 'خضراوی' گردیده و قابل توصیه به نخل‌داران است.

واژه‌های کلیدی: اینورتاز، پکتین متیل استراز، پلی گالاکتروناز، سلولاز، نفتالین استیک اسید

مقدمه

نخل خرما (*Phoenix dactylifera* L.) متعلق به خانواده Arecaceae است و بیشتر در مناطق خشک و نیمه خشک به ویژه در مناطق آسیای غربی و شمال آفریقا پرورش داده می‌شود (Jalali et

al., 2013). ایران با تولید حدود ۱/۳ میلیون تن خرما در رتبه سوم و از نظر صادرات خرما، با ۱۱۸ میلیون دلار صادرات در جایگاه ششم جهان قرار دارد (FAO, 2021). از کل سطح زیر کشت خرما (حدود ۳۷ هزار هکتار) در استان خوزستان، رقم 'خضراوی' بعد از استعمران، حدود هشت درصد سطح زیر کشت را به خود اختصاص داده است. درختان میوه نظیر نخل خرما، تولید میوه زیاد باعث می‌شود تا میوه‌ها برای رشد بهینه از کربوهیدرات کافی برخوردار نباشند. همچنین تولید میوه زیاد در هر خوشه، خطر شکسته شدن آن‌ها را به دنبال دارد. بنابراین، تنک میوه یکی از روش‌های مهم برای بهبود اندازه و کیفیت میوه‌ها است (Son, 2004). در خرما تنک میوه به صورت دستی و

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانش‌آموخته دکتری، استاد و استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
۴- دانشیار، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران
(*)- نویسنده مسئول: (Email: n.moallemi@scu.ac.ir)
<https://doi.org/10.22067/jhs.2024.87570.1337>

شیمیایی انجام می‌شود، ولی استفاده از روش مناسب با کاهش هزینه و سرعت بیشتر برای نخل‌کاران از اهمیت خاصی برخوردار است (Hassaballa et al., 1983).

یکی از روش‌های رایج در بهبود خصوصیات میوه خرما، تنک دستی است (Bashir et al., 2014; Moustafa et al., 2019) که می‌تواند با کاهش تعداد میوه‌ها در هر خوشه‌چه یا تعداد خوشه‌ها در هر نخل (Hussein, 1970) یا کاهش تعداد خوشه‌چه‌ها (Bakr et al., 2019; Moustafa et al., 2019) انجام گیرد. البته تحقیقات گسترده‌ای روی تأثیر تنک دستی بر میوه‌های دیگر نظیر زردآلو (*Prunus armeniaca*) رقم 'رقم پریانا و بلیانا' (Son, 2004) و گردی (Taghipour et al., 2011)، هلو (*Prunus persica*) (Dhinesh Babu & Yadav, 2004) و پسته (*Pistacia vera*) (Ramazani & Rahem, 2006) گزارش شده است. کاهش تعداد خوشه‌چه‌ها به میزان ۲۰ و ۴۰ درصد در هر نخل به‌طور قابل توجهی بر میزان مواد جامد محلول کل، درصد اسیدیته و قند کل تأثیر داشت (Atawia et al., 1998). تحقیقات انجام شده روی ارقام 'خضراوی' و 'مجل' نشان داد که تنک دستی باعث افزایش مواد جامد محلول کل، فنل کل، فلاونوئید کل، مواد آنتی‌اکسیدانی و قندهای احیاء و غیراحیاء و کاهش درصد تانن میوه گردید (Bashir et al., 2014). صفات کیفی و عملکرد خرمای ارقام 'زغلول' و 'حیانی' با تیمارهای کوتاه کردن خوشه‌چه‌ها و حذف تعدادی از خوشه‌چه‌ها به‌طور قابل توجهی افزایش یافت (Hassaballa et al., 1983). حذف ۳۰ درصد از کل تعداد رشته‌ها، هشت هفته پس از گرده‌افشانی در خرما رقم 'خضراوی' باعث افزایش قابل توجه مواد جامد محلول کل، میزان قندهای احیاء و کل میوه خرما در هر نخل گردید، درحالی‌که تیمارهای تنک دستی بر صفات قند غیراحیاء، اسیدیته کل و میزان تانن کل تأثیر معنی‌داری نداشتند (Moustafa et al., 2019). با تنک خوشه‌چه، فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک نظیر پلی‌گالاکتورناز و سلولاز در طول مراحل مختلف رشد افزایش یافتند (AlikhaniKoupaei, 2020).

کاربرد تنظیم‌کننده‌های رشد می‌تواند تأثیر مطلوبی بر بهبود خصوصیات کمی و کیفی میوه خرما داشته باشد (Jalali et al., 2013) از دیگر کاربردهای تنظیم‌کننده‌های رشد، اثر تنک‌کنندگی آن‌ها است. تنک‌کننده‌های زیادی مانند اتفون (AlSaikhan & sallam, 2015)، نفتالین استیک اسید، کارباریل و اسید جیبرلیک (Son, 2004)، اسیدآبسیزیک، نفتالین استامید و بنزیل‌آدنین (Tejpal et al., 2018) وجود دارند که موجب بهبود خصوصیات کمی و کیفی میوه می‌گردد. اکسین‌های مصنوعی به‌خصوص نفتالین استیک اسید در غلظت ۲۰ و ۳۰ میلی‌گرم در لیتر برای بهبود کیفیت میوه زردآلو بهترین تأثیر را داشت (Son, 2004). همچنین نفتالین استیک اسید

در غلظت ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم در لیتر روی مواد جامد محلول کل، اسیدیته کل و نسبت مواد جامد محلول کل به اسیدیته کل (شاخص طعم میوه) زردآلو رقم «گردی» تأثیر مثبتی داشت (Taghipour et al., 2011). نفتالین استیک اسید یکی از تنک‌کننده‌های شیمیایی مؤثر بر میوه خرما محسوب می‌شود که در برخی از ارقام گزارش شده است (Bakr et al., 2005). کاربرد نفتالین استیک اسید، ۷ تا ۲۱ روز پس از گرده‌افشانی با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر بر خرمای سامانی و زغلول اثر معنی‌داری بر مواد جامد محلول کل، میزان قندهای احیاء، غیراحیاء و کل داشت (Bakr et al., 2005). رستگار و همکاران (Rastegar et al., 2012) نشان دادند که فعالیت آنزیم اینورتاز در طول رسیدن میوه خرما رقم شاهانی، به‌طور قابل توجهی افزایش یافت. همچنین آنزیم‌های نرم‌کننده دیواره سلولی در طول رسیدن میوه، افزایش یافت. در پژوهش انجام شده توسط عواد و همکاران (Awad et al., 2011) روی پنج رقم خرما (برخی، مجول، لونت مساعد، هلالی و خنیزی) مشخص گردید که ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و غلظت ترکیبات آنتی‌اکسیدانی (فنل‌ها، تانن‌ها و ویتامین ث) طی رشدونمو میوه از مرحله حبابوک تا تمار کاهش یافتند.

بررسی تغییرات بیوشیمیایی در طول دوره رشدونمو میوه‌های مختلف و اثر تیمارهای مختلف بر بهبود کیفیت یکی از موضوع‌های مورد توجه پژوهشگران مختلف است. در خوزستان، رقم 'خضراوی' یکی از ارقام مهم استان به‌شمار می‌آید (Hashempour, 1999)، بنابراین هدف این پژوهش، بررسی نقش تنک دستی و شیمیایی و اثر آن بر بهبود خصوصیات بیوشیمیایی و میزان فعالیت آنزیمی این رقم در مراحل مختلف رشد میوه می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در نخلستان دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان واقع در شهرستان ملاطانی (۳۵ کیلومتری شمال شرقی اهواز) با طول و عرض جغرافیایی ۴۸ درجه و ۵۳ دقیقه شرقی و ۳۱ درجه و ۳۶ دقیقه شمالی و آزمایشگاه بخش باغبانی دانشگاه شهید چمران اهواز، روی خرما رقم 'خضراوی' در دو سال متوالی ۱۴۰۱ و ۱۴۰۲ انجام شد. ۲۷ نخل ماده ۲۰ ساله با اندازه و قدرت رشد تقریباً مساوی انتخاب شدند. گرده‌افشانی با گرده نر غنمی قرمز (رقم غالب گرده‌زا) به‌صورت دستی در دو سال متوالی انجام شد. شش خوشه در هر نخل در پایان دوره گرده‌افشانی باقی گذاشته شد. آزمایش به-صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتورها شامل تنک دستی (عدم تنک، حذف ۳۳ و ۲۵ درصد از تعداد کل خوشه‌چه‌ها) و تنک شیمیایی (صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نفتالین استیک اسید) بودند. تنک شیمیایی در مرحله

آنتی اکسیدانی، فنل کل و تانن محلول استفاده شد. مخلوطی به نسبت ۱:۱ از عصاره تهیه شده از میوه خرما و محلول DPPH در شرایط آزمایشگاه قرار داده و برای اندازه گیری ظرفیت آنتی اکسیدانی، جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر قرائت گردید (Amira et al., 2011). برای اندازه گیری فنل کل، ۱/۵ میلی لیتر معرف فولین به ۱۰۰ میکرو لیتر بخش رویی اضافه شد. به هر نمونه، ۱/۵ میلی لیتر محلول سدیم کربنات ۲۰ درصد افزوده و مخلوط در مکان تاریک گذاشته و سپس جذب آن در طول موج ۷۲۵ دستگاه اسپکتروفوتومتر قرائت گردید (Slinkard & Singleton, 1997). برای اندازه گیری تانن محلول، یک میلی لیتر عصاره در فالکن ۵۰ میلی لیتری ریخته و به آن متانول ۸۰ درصد اضافه گردید. سپس یک میلی لیتر برداشته شد. دو میلی لیتر فولین خالص به هر فالکن افزوده و پس از پنج دقیقه، دو میلی لیتر سدیم کربنات ۱۰ درصد به آن افزوده و یک ساعت در مکانی تاریک قرار گرفت و رنگ آبی حاصل شد. جذب آن در طول موج ۷۶۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر قرائت گردید (Amira et al., 2011).

اندازه گیری اسیدآسکوربیک

اسیدآسکوربیک (ویتامین C) براساس روش رانگانا (Ranganna, 1979) با اکسیداسیون اسیدآسکوربیک با رنگ ۶،۲- دی کلرو فنل اندوفنل اندازه گیری شد.

اندازه گیری فعالیت آنزیم پلی گالاکتروناز و پکتین متیل استراز

۱/۵ گرم از گوشت میوه له شده با سه میلی لیتر پلی اتیلن گلیکول ۱۲/۶ درصد حاوی ۰/۲ درصد بی سولفیت سدیم به مدت دو دقیقه کاملاً مخلوط و سپس به مدت ۱۰ دقیقه سانتی فیوژ گردیده و روشنای دور ریخته شد. رسوب جمع شده دومرتبه به ترتیب با ۱/۵ و ۱ میلی لیتر بافر مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه سانتی فیوژ و روشنای دور ریخته شد. برای اندازه گیری میزان فعالیت آنزیم های پکتین متیل استراز و پلی گالاکتروناز به رسوب باقی مانده، سه میلی لیتر بافر استخراج سرد حاوی سدیم استات، سدیم کلرید ۱۰۰ میلی مولار، ۲- مرکاپتواتانول دو درصد، پلی وینیل پیرولیدون پنج درصد اضافه و جهت استخراج به مدت ۱۰ دقیقه سانتی فیوژ گردید. از مایع رویی برای اندازه گیری فعالیت آنزیمی استفاده شد. برای اندازه گیری فعالیت آنزیم پلی گالاکتروناز، ۰/۲ میلی لیتر عصاره آنزیمی با ۰/۸ میلی لیتر پلی گالاکترونیک اسید ۲۵/۲ درصد در سدیم استات مخلوط گردید. به منظور اندازه گیری مقدار اسید گالاکترونیک آزاد شده، دو میلی لیتر بافر بورات تازه آماده شده و سپس ۰/۳ میلی لیتر سیانواستامید یک

حبابوک (حدود چهار هفته پس از گرده افشانی) و تنک دستی در مرحله کیمری (۱۲ تا ۱۳ هفته پس از گرده افشانی) انجام گردید. هدایت الکتریکی خاک در عمق های ۳۰ و ۶۰ سانتی متری به ترتیب ۴/۳ و ۳/۹ دسی زیمنس بر متر و pH خاک به ترتیب ۷/۶ و ۸/۲ بود.

نمونه برداری

میوه ها در دو سال متوالی پس از برداشت در هر مرحله به آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز انتقال یافت و شاخص ها به شرح زیر اندازه گیری شد.

اندازه گیری درصد مواد جامد محلول (TSS) کل، pH و اسیدیته قابل تیتراسیون (TA)

برای اندازه گیری درصد مواد جامد محلول کل میوه خرما (TSS)، pH و اسیدیته کل (TA)، پنج گرم از گوشت میوه با ۳۰ میلی لیتر آب مقطر عصاره گیری شده و سپس سانتی فیوژ گردید. درصد مواد جامد محلول کل میوه خرما (TSS) با استفاده از رفراکتومتر دیجیتالی و اسیدیته قابل تیتراسیون (TA) به روش AOAC (AOAC, 1995) اندازه گیری شد.

اندازه گیری حجمی قندها به روش احیاء مس

برای اندازه گیری قندها از روش فهلینگ استفاده شد. برای اندازه گیری قند احیاء ابتدا مقدار پنج گرم از گوشت میوه توزین و به آن ۱۰۰ میلی لیتر آب اضافه و پس از عصاره گیری و صاف کردن به حجم ۲۵۰ میلی لیتر رسانده شد. از این محلول برای تیتراسیون استفاده گردید. برای هیدرولیز قندهای غیر احیاء به قندهای احیاء کننده، ۱۰۰ میلی لیتر از محلول آماده شده استفاده و یک میلی لیتر HCl غلیظ به آن افزوده و مدت پنج دقیقه جوشانده و سپس با سود ۱۰ درصد خنثی شد. این محلول به حجم ۱۰۰ میلی لیتر رسانده و برای تیترسنجی محلول فهلینگ مورد استفاده قرار گرفت که بدین صورت قند کل اندازه گیری شد. در ادامه، از اختلاف بین قند کل و قند احیاء موجود در عصاره، قندهای غیر احیاء نظیر ساکارز محاسبه شد (Mostofi & Najafi, 2005).

اندازه گیری ظرفیت آنتی اکسیدانی، میزان فنل کل و تانن محلول

یک گرم از گوشت میوه با ۱۰ میلی لیتر متانول ۸۰ درصد مخلوط و به مدت دو ساعت توسط شیکر هم زده شد. سپس مخلوط به مدت ۲۰ دقیقه سانتی فیوژ و از روشنای دور برای اندازه گیری ظرفیت

نتایج و بحث

در جدول ۱ نتایج تجزیه واریانس مرکب صفات اندازه‌گیری شده در مراحل کیمری، خلال، رطب و تمار میوه خرماي رقم 'خضراوی' ارائه شده است. نتایج این جدول نشان می‌دهد که اثر سال آزمایش در مرحله کیمری بر همه صفات اندازه‌گیری شده به‌جز میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فنل کل، آنزیم پکتین متیل استراز و درصد قند غیراحیاء و در مرحله خلال بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فنل کل، آنزیم-های پلی‌گالاکتروناز، سلولاز و اینورتاز و درصد قند احیاء و غیراحیاء و در مرحله رطب بر آنزیم‌های پلی‌گالاکتروناز، پکتین متیل استراز و سلولاز و درصد قند غیراحیاء و در مرحله تمار بر مواد جامد محلول کل (TSS)، pH میوه، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فنل کل، آنزیم‌های پلی‌گالاکتروناز، سلولاز و اینورتاز و درصد قند احیاء معنی‌دار بود. همچنین اثرات متقابل تنک دستی و شیمیایی بر همه صفات به‌جز درصد اسیدیته کل، شاخص طعم میوه و میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی معنی‌دار بودند. البته در برخی صفات در مراحل تأثیر معنی‌دار و در برخی تأثیر غیرمعنی‌دار بود، بدین صورت که اثر متقابل تنک دستی و شیمیایی بر صفات مواد جامد محلول کل و pH میوه و آنزیم سلولاز و درصد قندهای احیاء و کل در همه مراحل به‌جز مرحله تمار تأثیر معنی‌دار و بر صفات میزان تانن محلول (به‌جز خلال و تمار)، فنل کل و درصد قند غیراحیاء (به‌جز خلال و رطب)، آنزیم‌های پلی‌گالاکتروناز (به‌جز تمار) و پکتین متیل استراز (به‌جز رطب و تمار) و اینورتاز (به‌جز کیمری و رطب) تأثیر غیرمعنی‌دار بود.

اثر انواع تنک بر درصد مواد جامد محلول کل (TSS)، pH میوه، اسیدیته قابل تیتراسیون و شاخص طعم میوه

براساس نتایج جداول مقایسه میانگین‌ها، اثر متقابل تنک دستی و شیمیایی در مراحل مختلف رشد میوه خرماي رقم «خضراوی» (جدول ۲) (جدول ۲، ۴، ۶ و ۸) نشان داد که درصد مواد جامد محلول کل (TSS) در مراحل کیمری، کمترین مقدار و به‌تدریج در مراحل بعدی افزایش یافت و در مرحله تمار بیشترین مقدار را به خود اختصاص داد. نتایج جداول مقایسه میانگین نشان داد که در سال اول و دوم، کمترین مقدار درصد مواد جامد محلول کل در مرحله کیمری (به-ترتیب ۲۹ و ۲۲ درصد) و بیشترین مقدار (به‌ترتیب ۶۸ و ۶۰ درصد) در تیمارهای اثر متقابل حذف ۲۵ درصد از تعداد کل خوشه‌چه‌ها و تنک شیمیایی ۵۰ میلی‌گرم در لیتر نفتالین استیک اسید در سال اول حاصل شد. در سال دوم، تمام تیمارها در مرحله تمار اثر یکسانی داشتند. کمترین pH میوه در مرحله کیمری و بیشترین مقدار pH میوه در سال اول و دوم در مرحله تمار (به‌ترتیب ۷/۵۶ و ۷/۶۴) در تیمارهای اثر متقابل بدون تنک دستی و تنک شیمیایی ۵۰ میلی‌گرم

درصد به مخلوط اضافه شد. جذب در طول موج ۲۷۶ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر قرائت گردید (Gross, 1982). فعالیت آنزیم پکتین متیل استراز مطابق با روش آونگ و همکاران (Awang et al., 2013) انجام شد. پکتین ۰/۵ درصد به‌عنوان سوبسترای انجام واکنش با آب مقطر تهیه شد. به سوبسترای انجام واکنش، سه درصد کلسیم کلرید یک مولار اضافه شد. ۴/۵ میلی‌لیتر از سوبسترا در ظرف مخصوص قرار داده و pH محلول توسط سدیم هیدروکسید ۰/۱ نرمال به عدد ۷/۵ رسانده شد و ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره آنزیمی به مخلوط اضافه و pH آن با استفاده از تیتراسیون سدیم هیدروکسید ۰/۰۰۵ نرمال به عدد ۷/۵ رسانده شد. برای نمونه شاهد، ۰/۵ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی را به دمای جوش رسانده و به مخلوط واکنش اضافه گردید و میزان هیدروکسید سدیم مصرفی آن تا رسیدن pH به عدد ۷/۵ ثبت شد.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های سلولاز و اینورتاز

جهت اندازه‌گیری دو آنزیم سلولاز و اینورتاز، ابتدا چهار گرم از بافت میوه به همراه ۸۵ میلی‌لیتر پلی‌اتیلن‌گلیکول در غلظت ۱۲ درصد و سدیم بی‌سولفیت ۰/۲ درصد عصاره‌گیری شد. مخلوط حاصل به‌مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. رسوب حاصل به همراه ۱۵ میلی‌لیتر بافر استات ۵۰ میلی‌مولار با pH معادل پنج و سدیم کلرید ۰/۵ مولار مخلوط و به‌مدت یک ساعت توسط شیکر به هم‌زده شده و سپس به‌مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ انجام شد. روشناور به همراه بافر سدیم استات ۵۰ میلی‌مولار در pH معادل پنج به‌عنوان عصاره آنزیمی به‌کار رفت. مخلوط شامل دو میلی‌لیتر از عصاره آنزیمی، هفت میلی‌لیتر از کربوکسی‌متیل سلولز ۰/۲۵ درصد (سوبسترای) و ۰/۱ میلی‌لیتر بافر سدیم استات ۰/۴ مولار با pH معادل پنج بود. برای اندازه‌گیری آنزیم سلولاز، میزان جذب در طول موج ۵۵۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر قرائت گردید (Hasegawa & Smolensky, 1971). برای آنزیم اینورتاز، مخلوط واکنش شامل ۰/۵ مولار بافر سدیم استات با pH معادل ۴/۵ به همراه ساکارز ۱/۵ مولار به‌عنوان سوبسترا و عصاره آنزیمی در حجم پنج میلی‌لیتر بود و ادامه کار شبیه روش اندازه‌گیری فعالیت آنزیم سلولاز بود (Kanner et al., 1978).

تجزیه آماری داده‌ها: تجزیه آماری داده‌ها شامل تجزیه

مرکب، مقایسه میانگین‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام گردید. داده‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد مقایسه شدند.

در لیتر نفتالین استیک اسید و حذف ۳۳ درصد از تعداد کل خوشه‌چه‌ها و بدون تنک شیمیایی حاصل گردید. روند تغییرات میزان اسیدیته کل میوه خرما از مرحله کیمری تا پایان مرحله تمار کاهشی بود، ولی تغییرات شاخص طعم میوه به مواد کل جامد محلول کل و میزان اسیدیته کل ارتباط مستقیم داشت و همانند مواد جامد محلول کل در طول دوره رشد میوه روندی افزایشی نشان داد و کمترین مقدار در مرحله کیمری و بیشترین مقدار در مرحله تمار به دست آمد. مصطفی (Moustafa, 1997) نشان داد که با حذف ۳۰ درصد از خوشه‌چه‌ها در دو هفته پس از گرده‌افشانی در خرما رقم سوی، درصد مواد جامد محلول افزایش یافت.

حذف یک سوم از خوشه‌چه‌ها در مرحله کیمری تأثیر معنی‌داری بر افزایش میزان مواد جامد محلول خرمای رقم استعمران دارد (Moallemi et al., 2023). تیمارهای تنک‌کننده میوه باعث ارسال فرآورده‌های فتوسنتزی بیشتر به میوه‌های باقی‌مانده و در نتیجه، میزان مواد جامد محلول افزایش می‌یابد. نتایج بکر و همکاران و مصطفی و همکاران (Bakr et al., 2005; Moustafa et al., 2019) با نتایج این آزمایش در یک راستا می‌باشند. نفتالین استیک اسید موجب افزایش مقدار pH میوه در طول دوره رشد میوه خرمای شاهانی و نارنگی (*Citrus tangerine*) رقم پرل تانجلو گردید (KhajeZade et al., 2018; Mohamadi et al., 2008). به‌طور معمول pH میوه متأثر از گروه‌های آمینو و کربوکسیل آزاد با وزن مولکولی پایین است و مقدار کمتری تحت تأثیر ماکرومولکول‌های سلولی (پروتئین‌ها، نوکلئیک‌اسیدها و پلی‌ساکاریدها) تغییر می‌کند. یون هیدروژن میوه از دیگر ویژگی‌های مرتبط با میزان اسیدیته کل میوه می‌باشد که فعالیت ریزجانداران را تحت تأثیر قرار می‌دهد و این عامل به‌خصوص در مراحل نهایی که میوه مصرف می‌شود، مؤثر است. اسیدهای غالب در میوه خرما، اسیدمالیک و اسیدسیتریک می‌باشد، نتایج به‌دست آمده از مقدار اسید قابل تیتر با نتایج رستگار (Rastegar & Rahemi, 2015) مطابقت دارد.

تأثیر انواع تنک بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی، میزان تانن محلول، فنل کل و اسیدآسکوربیک

نتایج حاصل از تنک میوه خرما و تأثیر آن بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی، میزان تانن محلول، فنل کل و اسیدآسکوربیک در جدول ۲، ۴ و ۸ منعکس می‌باشد. نتایج مقایسه میانگین‌های اثر متقابل تنک دستی و شیمیایی در مراحل مختلف رشد میوه خرما رقم 'خضراوی' نشان داد که تغییرات میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی، میزان تانن محلول،

فنل کل و اسیدآسکوربیک از الگوی مشابهی پیروی می‌کند و روند آن‌ها از مرحله کیمری تا پایان مرحله تمار کاهشی بود. طعم میوه در مراحل ابتدایی به دلیل وجود مواد فنلی و تانن‌ها گس است و کاهش ترکیبات فنولی و تاننی در هنگام رسیدن میوه‌ها موجب کاهش گسی شده و میوه قابل مصرف می‌شود. بهترین تیمار مؤثر در مرحله تمار بر میزان تانن محلول، تیمارهای اثر متقابل بدون تنک دستی و تنک شیمیایی ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر نفتالین استیک اسید در سال اول و دوم و بر فنل کل، تیمارهای اثر متقابل حذف ۳۳ درصد از تعداد کل خوشه‌چه‌ها و تنک شیمیایی ۱۰۰ میلی گرم در لیتر نفتالین استیک اسید در سال اول و تیمارهای اثر متقابل حذف ۲۵ درصد از تعداد کل خوشه‌چه‌ها و تنک شیمیایی ۱۰۰ میلی گرم در لیتر نفتالین استیک اسید در سال دوم و بر اسیدآسکوربیک، تیمارهای اثر متقابل حذف ۳۳ درصد از تعداد کل خوشه‌چه‌ها و تنک شیمیایی ۵۰ میلی گرم در لیتر نفتالین استیک اسید در هر دو سال بودند. تنک شیمیایی با نفتالین استیک اسید و تنک خوشه‌چه موجب افزایش اسیدآسکوربیک در زرشک (*Berberis vulgaris*) گردید (Kamiab et al., 2023). تنک دستی با حذف ۲۵ درصد از خوشه‌چه‌ها تأثیر معنی‌داری روی اسیدآسکوربیک در خرمای زغلول داشت (Hassaballa et al., 1983). ترکیبات فنولی به دو گروه محلول در آب (مانند فلاونوئیدها، اسیدفنولیک و کوئینین) و نامحلول در آب (مانند تانن‌ها و لیگنین) تقسیم‌بندی می‌شود. همزمان با بلوغ میوه خرما، میزان مواد فنولی کاهش می‌یابد. کاهش ترکیبات فنولی در هنگام رسیدن میوه‌ها را می‌توان به اکسید شدن این مواد نسبت داد. تانن‌ها که اغلب در لایه‌های تانن‌دار مزوکارپ یافت می‌شوند، عامل اصلی طعم گسی میوه‌های نارس می‌باشند. کاهش در محتوای تانن در طی رسیدن ممکن است به دلیل تبدیل لکوسیداین، تانن محلول در طی رسیدن به تانن غیرمحلول باشد، از این رو لیکوآنتوسیانیدین غیرمحلول در طی دوره رسیدن کاهش می‌یابد. به‌طور کلی، تعادل در تانن محلول و غیرمحلول، قابلیت مصرف میوه را تعیین می‌کند (Zarbakhsh & Rastegar, 2018). تنک کردن باعث دریافت فرآورده‌های فتوسنتزی بیشتری توسط میوه‌ها و بهبود خصوصیات کیفی میوه مانند ویتامین ث، فنل‌ها و تانن‌های میوه می‌شود، این مواد به‌عنوان مواد آنتی‌اکسیدانی عمل کرده و از این طریق، کیفیت میوه را در مراحل رطب و تمار بهبود می‌بخشد. خرما به دلیل داشتن آنتی‌اکسیدانت‌های غیرآنزیمی (کارتونوئید، مواد فنلی، فلاونوئید و اسیداسکوربیک) فعالیت ضدرادیکالی مهمی دارد و از خسارت‌های اکسیداتیو جلوگیری می‌کند (Awad et al., 2011).

جدول ۱- تجزیه واریانس مرکب شاخص‌های درصد مواد جامد محلول، pH، اسیدیته قابل تیتراسیون، طعم میوه، فنل کل، میزان تانن محلول، اسیداسکوربیک، درصد قند احیاء، غیراحیاء، قند کل، آنزیم‌های پلی گالاکتورناز، پکتین متیل استراز سلولاز و اینورتاز در مراحل کیمری، خلال، رطب و تمار رقم خضرآوی

Table 1-Combined ANOVA for indices percentage of soluble solids, pH, titratable acidity, fruit flavor, total phenol, amount of soluble tannin, ascorbic acid, percentage of reducing sugar, non-reducing sugar, total sugar, poly galacturonase enzymes, pectin-methyl Esterase, cellulase and invertase in Kimri, Khalal, Rutab and tamar stages in Khadravi Cultivar

مرحله رشد Growth stage	منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	درصد مواد جامد محلول TSS	pH میوه	اسیدیته قابل تیتر Titratable acidity	شاخص طعم میوه TSS/TA	فنل کل Total phenolic	میزان تانن محلول Soluble tannin	اسید اسکوربیک Vitamin C	قند احیاء Reducing sugars	قند غیراحیاء Non-reducing sugars	قند کل Total sugars	پلی گالاکتورناز Polygalacturonase	پکتین متیل استراز Pectin methyl esterase	آنزیم سلولاز Cellulase	آنزیم اینورتاز Invertase
کیمری Kimri	سال Year	1	954.24**	4.39**	0.37**	193.36**	0.0003 ^{ns}	50.14**	3.37**	9.47*	1.034 ^{ns}	16.77**	271.2**	0.018 ^{ns}	0.03 ^{ns}	26.7**
	بلوک (سال) Block (year)	4	0.96 ^{ns}	0.003*	0.07*	1.6*	0.001**	0.23 ^{ns}	0.24 ^{ns}	0.28 ^{ns}	5.69 ^{ns}	4.29 ^{ns}	6.9 ^{ns}	0.3 ^{ns}	1.067 ^{ns}	5.78 ^{ns}
	تک دستی a (manual thinning)	2	4.13*	0.7**	0.05 ^{ns}	0.26 ^{ns}	0.01**	18.34**	0.76*	34.33**	0.79 ^{ns}	1.76 ^{ns}	7.06 ^{ns}	0.14 ^{ns}	22.07**	18.06*
	تک شیمیایی b (chemical thinning)	2	2.3 ^{ns}	0.003 ^{ns}	0.007 ^{ns}	0.37 ^{ns}	0.002**	3.37 ^{ns}	0.3 ^{ns}	6.54*	32.6*	0.6 ^{ns}	5.09 ^{ns}	0.17 ^{ns}	22.07**	38.09**
	تک دستی × شیمیایی a×b	4	3.85*	0.007**	0.06 ^{ns}	1.003 ^{ns}	0.0003 ^{ns}	0.81 ^{ns}	0.24 ^{ns}	20.7**	4.33 ^{ns}	9.23**	18.8 ^{ns}	0.25 ^{ns}	8.93**	13.09**
خلال Khalal	ضرب تغییرات CV (%)		4.14	0.55	6.03	7.83	8.8	15.42	5.58	9.07	12.7	3.97	14.6	7.42	27.6	11.11
	سال Year	1	468.17**	0.17**	1.28**	1238.8**	0.00009 ^{ns}	1336.3**	0.98**	0.52 ^{ns}	67.05 ^{ns}	55.8**	35.94 ^{ns}	3.13*	11.33 ^{ns}	421.9 ^{ns}
	بلوک (سال) Block (year)	4	3.89 ^{ns}	0.0059 ^{ns}	0.83 ^{ns}	47.9 ^{ns}	0.0012 ^{ns}	0.36 ^{ns}	0.15*	7.83*	17.99 ^{ns}	19.06*	2.18 ^{ns}	0.35 ^{ns}	1.067 ^{ns}	140.2 ^{ns}
	تک دستی a (manual thinning)	2	70.72**	0.018**	0.02 ^{ns}	73.75*	0.006**	18.67**	0.33**	50.6**	101.5**	45**	21.42 ^{ns}	0.68 ^{ns}	25.64**	180 ^{ns}
	تک شیمیایی b (chemical thinning)	2	11.55*	0.0005 ^{ns}	0.09 ^{ns}	39.5 ^{ns}	0.001 ^{ns}	0.29 ^{ns}	0.19*	4.54 ^{ns}	102.7**	9.7 ^{ns}	12.68 ^{ns}	0.96 ^{ns}	3.04 ^{ns}	67.7 ^{ns}
خلال Khalal	تک دستی × تک شیمیایی a×b	4	58.03**	0.082**	0.08 ^{ns}	12.9 ^{ns}	0.0027*	10.16**	0.13 ^{ns}	58.6**	61.04*	45.83**	17.5 ^{ns}	0.41 ^{ns}	27.0**	99.4 ^{ns}
	ضرب تغییرات CV (%)		3.67	0.77	13.57	16.07	24	6.36	3.5	8.5	15.04	5.03	13.9	8.64	12.76	10.67

*، ** و ns: به ترتیب معنی غیرمعنی داری و معنی داری در سطح احتمال پنج و یک درصد می‌باشند.
*, ** and ns: indicate significant at the 5% and 1% of probability levels and non-significant, respectively

ادامه جدول ۱- تجزیه واریانس مرکب شاخص‌های درصد مواد جامد محلول، pH، اسیدیته قابل تیتراسیون، طعم میوه فنل کل، میزان تانن محلول، اسیداسکوریک، درصد قند احیاء، غیراحیاء، قند کل، آنزیم‌های پلی گالاکتوناز، پکتین متیل استراز سلولاز و اینوراز تانر در مراحل کیموی، خلال، رطب و تمار رقم خضرآوی؛

Continued Table 1-Combined ANOVA for indices percentage of soluble solids, pH, titratable acidity, fruit flavor, total phenol, amount of soluble tannin, ascorbic acid, percentage of reducing sugar, non-reducing sugar, total sugar, poly galacturonase enzymes, pectin-methyl Esterase, cellulase and invertase in Kimri, Khalal, Rutab and tamar stages in Khadravi Cultivar

مرحله رشد	منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	درصد مواد جامد محلول TSS	pH میوه	اسیدیته قابل تیتر Titratable acidity	شاخص طعم میوه TSS/TA	فنل کل Total phenolic	میزان تانن محلول Soluble tannin	اسید اسکوریک Vitamin C	قند احیاء Reducing sugars	غیراحیاء Non-reducing sugars	قند کل Total sugars	گالاکتوناز Polygalacturonase	آنزیم پکتین متیل استراز Pectin methyl esterase	آنزیم سلولاز Cellulase	آنزیم اینوراز Invertase
رطب Rutab	سال Year	1	468.17 ^{ns}	3.17 ^{**}	13.06 ^{**}	19092.2 ^{**}	0.00008 ^{**}	51.8 ^{**}	0.52 [*]	64.96 ^{**}	7.87 ^{ns}	118.13 ^{**}	13.45 ^{ns}	2.24 ^{ns}	40.68 ^{ns}	1880.7 [*]
	بلوک (سال) Block (year)	4	8.31 [*]	0.026 ^{**}	0.07 ^{ns}	420.28 [*]	0.000003 ^{ns}	0.12 ^{ns}	0.11 ^{ns}	7.98 ^{ns}	8.7 ^{ns}	3.4 ^{ns}	32.38 ^{**}	1.02 ^{ns}	29 ^{ns}	114.8 ^{ns}
	تنک دستی a (manual thinning)	2	58.9 ^{**}	0.19 ^{**}	0.024 ^{ns}	313.37 ^{ns}	0.0003 ^{**}	0.085 ^{ns}	0.027 ^{ns}	6.57 ^{ns}	38.3 ^{ns}	7.035 ^{ns}	20.38 [*]	33.57 ^{**}	3663.9 ^{**}	6116.7 ^{**}
	تنک شیمیایی b (chemical thinning)	2	15.9 ^{**}	0.037 ^{**}	0.007 ^{ns}	146.7 ^{ns}	0.000002 ^{ns}	0.28 ^{ns}	0.047 ^{ns}	4.76 ^{ns}	32.3 ^{ns}	54.75 ^{**}	7.41 ^{ns}	10.02 ^{**}	218.2 ^{ns}	1773.7 ^{**}
تمار Tamar	تنک دستی × تنک شیمیایی a×b	4	19.9 ^{**}	0.028 ^{**}	0.03 ^{ns}	6.5 ^{ns}	0.00019 ^{**}	0.15 ^{ns}	0.28 [*]	20.7 ^{**}	106.4 ^{**}	66.7 ^{**}	22.1 ^{**}	15.57 ^{**}	1914.8 ^{**}	1076.6 ^{**}
	ضریب تغییرات CV (%)		3.18	0.94	13.08	23.11	13.1	21.28	5.17	5.7	25.6	4.65	6.58	9.94	14.8	7.89
	سال Year	1	25.35 ^{ns}	0.048 ^{ns}	1153 ^{**}	7864.2 ^{**}	0 ^{ns}	1.75 ^{**}	1.04 [*]	6.93 ^{ns}	94.63 [*]	152.79 ^{**}	0.63 ^{ns}	5.73 ^{**}	91.54 ^{ns}	20.13 ^{ns}
	بلوک (سال) Block (year)	4	42.24 ^{ns}	0.038 ^{ns}	0.015 ^{ns}	50 ^{ns}	0.00001 ^{ns}	0.0047 ^{ns}	0.03 ^{ns}	5.47 ^{ns}	21.32 ^{ns}	5.22 ^{ns}	13.55 ^{**}	1.79 [*]	9.67 ^{ns}	53.3 ^{ns}
تمار Tamar	تنک دستی a (manual thinning)	2	33.46 ^{ns}	0.029 ^{ns}	0.24 ^{**}	45.88 ^{ns}	0.00005 ^{**}	0.046 ^{**}	0.025 ^{ns}	0.1 ^{ns}	53.93 [*]	18.39 [*]	14.01 [*]	2.4 [*]	5.3 ^{ns}	50.87 ^{ns}
	تنک شیمیایی b (chemical thinning)	2	29.13 ^{ns}	0.002 ^{ns}	0.036 ^{ns}	49.11 ^{ns}	0.00007 ^{**}	0.029 [*]	0.94 ^{**}	51.64 ^{**}	18.93 ^{ns}	19.19 ^{**}	23.48 ^{**}	0.47 ^{ns}	744.6 [*]	5.48 ^{ns}
	تنک دستی × تنک شیمیایی a×b	4	62.76 ^{ns}	0.005 ^{ns}	0.016 ^{ns}	33.87 ^{ns}	0.00001 ^{ns}	0.043 ^{**}	0.14 ^{ns}	45.34 ^{**}	18.64 ^{ns}	13.7 [*]	7.65 [*]	2.28 [*]	98.8 ^{ns}	194.4 ^{ns}
	ضریب تغییرات CV (%)		9.15	1.84	7.81	14.6	24.13	22.45	8.89	6.72	24.27	3.95	3.92	5.29	12.75	5.4

ns و **: به ترتیب معنی داری و معنی داری در سطح احتمال پنج و یک درصد می‌باشد.

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

جدول ۲- اثر متقابل تنک دستی × شیمیایی میوه خرما رقم 'خضراوی' در مرحله کیمیری بر شاخص‌های درصد مواد جامد محلول، pH میوه، درصد اسیدیت کل میوه، طعم میوه، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فنل کل، میزان تانن محلول و اسیدآسکوربیک در سال‌های اول و دوم

Table 2- The interaction effect of hand × chemical thinning of the fruit of Khadravi cultivar in kimiri stage on the indices of the percentage of soluble solids, fruit pH, total fruit acidity, fruit flavor, antioxidant activity, Total phenol, amount of soluble tannin and ascorbic acid and in the first and second years

سال Year	تنک دستی a (Hand thinning)	تنک شیمیایی b (Chemical thinning)	درصد مواد جامد محلول TSS (%)	pH میوه	اسیدیت کل Total acidity (%)	شاخص طعم میوه TSS/TA	فعالیت آنتی‌اکسیدانی Antioxidant activity (%)	فنل کل Total phenolic (mg.g ⁻¹)	میزان تانن محلول Soluble tannin (mg.g ⁻¹)	اسید آسکوربیک Vitamin C (mg.g ⁻¹)
1	0	0	28.67a*	6.22ab	2.56a	11.28a	68.65a	0.14d	5.3a	6.9a
	0	1	29 a	6.18bc	2.56a	11.48a	69.84a	0.15cd	7.05a	7.4a
	0	2	29 a	6.09e	2.45a	11.86a	60.32a	0.17bcd	7.44a	6.93a
	1	0	28.67a	6.093de	2.56a	11.19a	54.76a	0.19ab	7.47a	6.87a
	1	1	28.67a	6.12de	2.56a	11.19a	59.5a	0.168bcd	5.76a	6.97a
	1	2	27.67a	6.23a	2.45a	11.28a	60.7a	0.21a	6.17a	7.3a
	2	0	29 a	6.27a	2.67a	10.92a	58.7a	0.18abc	6.82a	7.03a
	2	1	28.67a	6.14dc	2.67a	10.79a	61.1a	0.19ab	6.93a	6.93a
2	2	2	28.67a	6.23a	2.56a	11.19a	60.32a	0.19ab	6.23a	7.1a
	0	0	17d	6.62d	2.45b	6.95bc	70.2a	0.15d	6.7cd	7.3bcd
	0	1	19c	6.66d	2.88a	6.59c	73.8a	0.15d	6.42d	7.07cd
	0	2	21 ab	6.66d	2.77a	7.58bc	60.3a	0.15d	6.36d	6.9d
	1	0	20bc	6.77bc	2.77a	7.24bc	58.7a	0.2b	7.87bc	7.17cd
	1	1	22 a	6.74c	2.45b	8.96a	59.5a	0.2b	10.59a	7.7abcd
	1	2	20.3abc	6.74c	2.88a	7.06bc	55.5a	0.2b	11.54a	7.8abc
	2	0	21 ab	6.86a	2.77a	7.61b	58.7a	0.18c	8.5b	7.6abcd
	2	1	21 ab	6.84a	2.67ab	7.89b	61.1a	0.19bc	8.4b	8.1ab
	2	2	21 ab	6.83ab	2.88a	7.29bc	61.1a	0.22a	11.16a	8.2a

* در هر ستون، میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، در سطح احتمال پنج درصد با استفاده از آزمون LSD اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

In each column, means with at least one common letter do not show significant difference at the 5% of probability level based on LSD test.

تأثیر انواع تنک بر قندهای احیاء، غیراحیاء و کل

نتایج این آزمایش نشان داد که تنک دستی و شیمیایی تأثیر معنی‌داری بر افزایش میزان قندهای احیاء و کل داشته که در بین سطوح مختلف تنک، تیمارهای حذف ۲۵ درصد از تعداد کل خوشه‌چه‌ها به‌تنهایی و در ترکیب با پایین‌ترین سطح تنک شیمیایی (تنک شیمیایی ۵۰ میلی‌گرم در لیتر نفتالین استیک اسید) بهترین نتیجه را در برداشت، روند تغییرات درصد قند احیاء و کل در میوه خرما از الگوی مشابهی پیروی می‌کند و در مراحل اولیه رشد میوه میزان آن‌ها کم و در مراحل رسیدن و بلوغ میوه میزان این قندها افزایش می‌یابد (جدول ۳، ۵، ۷ و ۹) ولی قند غیراحیاء (نظیر ساکارز) برعکس قند احیاء و کل میزان آن در مراحل اولیه بالا و در مراحل پایانی به‌دلیل تبدیل قندهای غیراحیاء به قندهای احیاء کاهش می‌یابد و این

تبدیل به‌دلیل فعالیت بیشتر آنزیم اینورتاز در مراحل پایانی رشد میوه می‌باشد (Moallemi et al., 2023). حذف ۴۰ درصد از خوشه‌چه، موجب افزایش درصد قند کل در ارقام برخی و مجول گردید (Atawia et al., 2020). غلظت ساکارز، بیشتر از قندهای احیاء‌کننده در مراحل اولیه رشد بود و در مراحل پایانی قندهای احیاء‌کننده به‌میزان زیادی افزایش یافت و قند غالب را تشکیل داد، یافته‌های عطاوی (Atawia et al., 2020) با نتایج این پژوهش در یک راستا بود. تجمع قندهای احیاء (نظیر گلوکز و فروکتوز) و کل در میوه در طول دوره رشد به‌تدریج افزایش و در مرحله بلوغ به‌دلیل کاهش رطوبت میوه به‌طور عمده افزایش می‌یابد، ولی برخلاف آن قندهای غیراحیاء در مراحل پایانی روند کاهشی خواهد داشت (Rastegar et al., 2012).

جدول ۳- اثر متقابل تنک دستی × شیمیایی میوه خرما رقم 'خضراوی' در مرحله کیمری بر شاخص‌های آنزیم‌های پلی‌گالاکتروناز، پکتین‌متیل‌استراز، سلولاز و اینورتاز و قندهای احیاء، غیراحیاء و کل در سال‌های اول و دوم

Table 3- The interaction effect of hand × chemical thinning of the fruit of Khadravi cultivar in kimiri stage on the indices of the poly-galactronase, pectin-methyl-esterase, cellulase and invertase enzymes and reducing, non-reducing and total sugars in the first and second years

سال Year	تنک دستی a (Hand thinning)	تنک شیمیایی b (Chemical thinning)	آنزیم پلی- گالاکتروناز Polygalacturonase (U.g ⁻¹)	آنزیم پکتین متیل استراز Pectin methyl esterase (U.g ⁻¹)	آنزیم سلولاز Cellulase (U.g ⁻¹)	آنزیم اینورتاز Invertase (U.g ⁻¹)	قند احیاء Reducing sugars (%)	قند غیراحیاء Non-reducing sugars (%)	قند کل Total sugars (%)
1	0	0	20.5abc*	4.8a	9.1a	14.32a	12.43bc	21.98a	33.3abc
	0	1	24.2a	4.7a	2.6de	11.7ab	10.78c	18.46a	33.28abc
	0	2	18.7bc	4.8a	2.6de	10.4ab	13.27b	22.29a	34.43abc
	1	0	24.49a	4.8a	1.3e	11.7ab	14.39ab	21.6a	33.8abc
	1	1	21.7ab	3.8b	1.7e	13.02a	16.36a	20.55a	35.47a
	1	2	24.01a	4.8a	2.6de	7.8b	12.27bc	20.66a	33.17bc
	2	0	22.5ab	4.8a	6.5b	7.8b	12.44bc	21.63a	34.6ab
	2	1	15.8c	4.7a	3.9cd	11.7ab	12.93bc	19.07a	32.34c
2	2	2	19.29abc	4.7a	5.2bc	7.8b	12.58bc	20.22a	33.52abc
	0	0	15.21bc	4c	3.9bc	14.75a	12.37c	21.13a	32.62ab
	0	1	15.26bc	4.5bc	5.2ab	13.45ab	10.46d	18.14a	32.62ab
	0	2	16.4b	4.8ab	2.6c	10.42de	11.26cd	20.21a	30.99b
	1	0	17.8ab	5.2a	3.9bc	9.12e	10.32d	21.16a	32.62ab
	1	1	12.1c	5.3a	3.9bc	12.65bc	18.13a	20.21a	34.44a
	1	2	17.64ab	4.5bc	2.6c	12.59bc	13.86b	20.56a	31.48b
	2	0	16.32bc	4.2c	6.5a	11.28cd	11.26cd	22.02a	33.17ab
	2	1	21.53a	4.3bc	2.6c	14.32a	11.26cd	17.87a	31.48b
	2	2	18.57ab	4.8ab	3.9bc	10.42de	10.95d	22.66a	34.44a

* در هر ستون، میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، در سطح احتمال پنج درصد با استفاده از آزمون LSD اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

* In each column, means with at least one common letter do not show significant difference at the 5% of probability level based on LSD test.

تأثیر انواع تنک بر آنزیم‌های پلی‌گالاکتروناز و پکتین‌متیل‌استراز

براساس جداول مقایسه میانگین‌ها (جدول ۳، ۵، ۷ و ۹)، اثر متقابل تنک دستی و شیمیایی بر آنزیم‌های پلی‌گالاکتروناز و پکتین‌متیل‌استراز نشان داد که تنک بر میزان فعالیت این دو آنزیم در مراحل ابتدایی (مراحل کیمری و خلال) اثر معنی‌داری نداشت، ولی در مراحل پایانی (رطب و تمار) میزان فعالیت این دو آنزیم تحت تأثیر اثر متقابل تنک قرار گرفتند. در مرحله رطب، تیمار تنک شیمیایی ۵۰ میلی‌گرم در لیتر نفتالین استیک اسید و در مرحله تمار تیمار تنک شیمیایی ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نفتالین استیک اسید به‌تنهایی و در ترکیب با حذف ۳۳ درصد از تعداد کل خوشه‌چه‌ها بر میزان فعالیت آنزیم پلی‌گالاکتروناز و شاهد و همچنین تیمار حذف ۲۵ و ۳۳ درصد از تعداد کل خوشه‌چه‌ها در ترکیب با همه سطوح تنک شیمیایی در مرحله رطب و تمار بر میزان فعالیت پکتین‌متیل‌استراز بهترین تأثیر را داشتند. در نخل خرما، آنزیم‌های متعددی در فرآیند رسیدن نقش دارند که شامل اینورتاز، پلی‌فنل‌اکسیداز، پکتیناز، پکتین‌متیل‌استراز، پلی‌گالاکتروناز و سلولاز می‌باشند (Fadhil et al., 2023). دو آنزیم

مورد بحث (پلی‌گالاکتروناز و پکتین‌متیل‌استراز) از نظر روند تغییرات در مراحل مختلف رشد میوه خرما رقم 'خضراوی' فعالیت آنزیمی مشابهی را نشان می‌دهند (Rastegar et al., 2012; AlikhaniKoupaei et al., 2020). از مرحله کیمری تا مرحله برداشت (تمار) به‌تدریج میزان فعالیت آنزیمی پلی‌گالاکتروناز و پکتین‌متیل‌استراز افزایش یافت، البته میزان افزایش در مرحله تمار کمتر است، نتایج این پژوهش با نتایج رستگار و همکاران و علیخانی و همکاران (Rastegar et al., 2012; AlikhaniKoupaei et al., 2020) در یک راستا بود. تحقیقات مختلفی در مورد فعالیت آنزیم‌های تخریب‌کننده دیواره سلولی در برخی میوه‌ها مانند پلی‌گالاکتروناز در گوجه‌فرنگی (*Lycopersicon esculentum*) و آووکادو (*Persea americana*) انجام شده است. فعالیت آنزیمی در موز (*Musa spp*)، گوجه‌فرنگی، گواوا (*Psidium guajava*) و پاپایا (*Carica papaya*) در طول رسیدن افزایش می‌یابد، اما این فعالیت در میوه‌های بالغ به‌صورت‌های متفاوتی مشاهده گردید، پکتین‌متیل‌استراز در گواوا و پاپایا کم، موز و گوجه‌فرنگی زیاد و انبه بسیار زیاد بود

افزایش پکتین‌های باند شده است، زیرا پکتین سوبسترای پلی‌گالاکتروناز است و پکتین را طی رسیدن از حالت باند خارج می‌نماید (Chea et al., 2019). در مطالعه‌ای روی میوه پاپایا، نتیجه‌گیری شد که اوج فعالیت آنزیم پکتین‌متیل‌استراز با کاهش سختی این میوه همزمان نبود و نمی‌تواند به‌عنوان آنزیم هیدرولیزکننده اصلی دیواره سلول باشد. به‌نظر می‌رسد که یک تک‌آنزیم نمی‌تواند مسئول نرم‌شدن میوه‌ها باشد و آنزیم‌های هیدرولیتیک در ارتباط با یکدیگر قادر به نرم کردن میوه طی رسیدن می‌گردند (Thumdee et al., 2010). سنتز اتیلن نقش کلیدی در تنظیم رسیدن میوه‌ها ایفا می‌کند، کاربرد نفتالین استیک اسید، تعادل هورمونی در گیاهان را مختل و سنتز اتیلن را تحریک می‌کند و در نتیجه، فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک تسریع شده و تنک دستی و شیمیایی می‌تواند از این طریق روی میزان فعالیت این آنزیم‌ها مؤثر باشند (Kamiab et al., 2023).

(Rastegar et al., 2012). نرم شدن میوه عامل اصلی تعیین‌کننده کیفیت میوه است که می‌تواند نتیجه تخریب دیواره سلولی توسط آنزیم‌ها باشد، به‌طور کلی تخریب اجزاء پلی‌ساکارید دیواره سلولی و کاهش چسبندگی یاخته به یاخته در نتیجه تخریب تیغه میانی از عوامل اصلی نرم شدن میوه است که این امر در اثر تنک تشدید گردید. نتایج به‌دست آمده نشان داد که تنک خوشه‌چه و شیمیایی روی فعالیت دو آنزیم مورد بررسی مؤثر بر تخریب دیواره سلولی در مراحل اولیه که دیوار مستحکم است، در همه تیمارها اثر یکسانی داشتند و در مراحل نهایی رشد میوه (رطب و تمار) که میوه نرم می‌شود، تنک خوشه‌چه و شیمیایی فعالیت آنزیم‌های مؤثر بر دیواره سلولی را تشدید می‌نماید. نرم‌شدگی بافت میوه خرما در ابتدا ناشی از فعال‌شدن آنزیم‌های پلی‌گالاکتروناز و سلولاز است، اما پس از تبدیل میوه به رطب، فعالیت آنزیم اینورتاز مؤثر است (Barreveld, 1993). فعالیت بیشتر آنزیم پلی‌گالاکتروناز طی مراحل رسیدن مربوط به

جدول ۴- اثر متقابل تنک دستی × شیمیایی میوه خرما رقم 'خضراوی' در مرحله خلال بر شاخص‌های درصد مواد جامد محلول، pH میوه، درصد اسیدیت کل میوه، طعم میوه، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فنل کل، میزان تانن محلول و اسیدآسکوربیک در سال‌های اول و دوم

Table 4- The interaction effect of hand × chemical thinning of the fruit of Khadravi cultivar in khalal stage on the indices of the percentage of soluble solids, fruit pH, total fruit acidity, fruit flavor, antioxidant activity, Total phenol, amount of soluble tannin and ascorbic acid in the first and second years

سال Year	تنک دستی a (Hand thinning)	تنک شیمیایی b (Chemical thinning)	مواد جامد محلول TSS (%)	pH	اسیدیت کل میوه Total acidity (%)	شاخص طعم میوه TSS/TA	فعالیت آنتی‌اکسیدانی Antioxidant activity (%)	فنل کل Total phenolic (mg.g ⁻¹)	میزان تانن محلول Soluble tannin (mg.g ⁻¹)	اسید آسکوربیک Vitamin C (mg.g ⁻¹)
1	0	0	37b*	6.9c	1.92a	19.44b	38.8a	0.085d	5.8def	6.13d
	0	1	37.3b	6.92c	1.7a	19.47b	46.8a	0.12bcd	6.86abc	6.7abc
	0	2	33c	7.27a	1.6a	25ab	40.5a	0.13ab	7.31a	6.53bc
	1	0	39b	7.1b	1.81a	19.93b	46a	0.14ab	6.46bcd	6.37cd
	1	1	36bc	7.25a	1.7a	21.73b	47.62a	0.12bcd	6.16cde	6.57abc
	1	2	37b	6.92c	1.6a	30.017a	48.4a	0.17a	7.18ab	6.9a
	2	0	46.67 a	7.24a	1.6a	21.14b	48.02a	0.13bc	6.56abc	6.8ab
	2	1	33c	7.13b	1.92a	24.48ab	47.62a	0.088cd	5.47ef	6.7abc
	2	2	47a	6.86c	1.38a	29.16ab	47.62a	0.086d	5.06f	6.8ab
2	0	0	40e	7.15b	1.38a	33.48ab	42.8a	0.117ab	5.6cd	6.1a
	0	1	46b	7.18b	1.6a	26.25b	42.5a	0.115ab	7.15abc	6.3a
	0	2	42de	7.2b	1.38a	36.45a	38.1a	0.13ab	8.2a	6.2a
	1	0	50a	7.196b	1.38a	33.64ab	40.1a	0.12ab	7.5ab	6.3a
	1	1	46b	7.16b	1.28a	35ab	43.25a	0.12ab	6.44bc	6.23a
	1	2	43bc	7.32a	1.38a	29.94ab	45.2a	0.169a	7.9ab	6.47a
	2	0	41de	7.16b	1.28a	37.62a	43.6a	0.115ab	6.44bc	6.47a
	2	1	46b	7.12b	1.6a	28.99ab	46.8a	0.104b	4.8d	6.47a
	2	2	45bc	7.11b	1.92a	19.44b	41.7a	0.094b	3.05e	6.43a

* در هر ستون، میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، در سطح احتمال پنج درصد با استفاده از آزمون LSD اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

* In each column, means with at least one common letter do not show significant difference at the 5% of probability level based on LSD test.

جدول ۵- اثر متقابل تنک دستی × شیمیایی میوه خرما رقم 'خضراوی' در مرحله خلال بر شاخص‌های آنزیم‌های پلی‌گالاکتروناز، پکتین متیل استراز، سلولاز و اینورتاز و قندهای احیاء، غیراحیاء و کل در سال‌های اول و دوم

Table 5- The interaction effect of hand × chemical thinning of the fruit of Khadravi cultivar in khalal stage on the indices of the poly-galactronase, pectin-methyl-esterase, cellulase and invertase enzymes and reducing, non-reducing and total sugars in the first and second years

سال Year	تنک دستی a (Hand thinning)	تنک شیمیایی b (Chemical thinning)	آنزیم پلی- گالاکتروناز Polygalacturonase (U.g ⁻¹)	آنزیم پکتین متیل استراز Pectin methyl esterase (U.g ⁻¹)	آنزیم سلولاز Cellulase (U.g ⁻¹)	آنزیم اینورتاز Invertase (U.g ⁻¹)	قند احیاء Reducing sugars (%)	قند غیر احیاء Non- reducing sugars (%)	قند کل Total sugars (%)
1	0	0	31.2a*	9.7a	10.4c	98.1b	16.4bc	25.15b	43.3c
	0	1	32.4a	9.7a	9.5c	114.7a	15.7c	31.45a	48.42ab
	0	2	31.25a	9.7a	15.6a	106.7ab	22.7a	22.9b	44.1c
	1	0	24.7a	9a	16.9a	116.4a	18.3b	27.8ab	47.1b
	1	1	31.25a	9a	11.7bc	106.7ab	16.34bc	26.67ab	43.5c
	1	2	30.6a	9.3a	10.4c	98.1b	15.4c	27.8ab	47.25ab
	2	0	32.1a	9.7a	11.3bc	96.35b	22.6a	31.44a	48.7ab
	2	1	30.1a	9.3a	14.3ab	108.1ab	21.7a	32.7a	49.05a
2	2	2	32.1a	9a	14.3ab	78.1c	16.4bc	27.6ab	47.6ab
	0	0	29.8ab	9.3a	11.7c	93.3b	17.74c	23.8ab	43.2ab
	0	1	29.6ab	9ab	12.15c	101.1ab	16.5c	31.3a	47.78a
	0	2	29.6ab	8.7ab	11.7c	97.2ab	22.6a	17.9b	41.37b
	1	0	28.4ab	9ab	12.15c	91.15b	17.74c	24.7ab	44.34ab
	1	1	26.1ab	8.7ab	18.2ab	92.8b	16.55c	23.4ab	40.4b
	1	2	30.4ab	8.7ab	11.7c	102.8ab	16.15c	25.2ab	44.8ab
	2	0	30.6a	9.7a	18.6a	92.8b	21.02ab	29.9a	47.78a
	2	1	25.8b	8b	10.4c	87.6b	21.02ab	30.8a	47.78a
	2	2	30.7a	9ab	16.1b	113.8a	17.92bc	26.3a	43.2ab

* در هر ستون، میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، در سطح احتمال پنج درصد با استفاده از آزمون LSD اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

* In each column, means with at least one common letter do not show significant difference at the 5% of probability level based on LSD test.

تأثیر انواع تنک بر آنزیم‌های سلولاز و اینورتاز

براساس نتایج به‌دست آمده، اثر متقابل تنک خوشه‌چه و شیمیایی در مراحل مختلف رشد میوه خرما رقم 'خضراوی' مؤثر و روند تغییرات آنزیم‌های سلولاز و اینورتاز در میوه خرما رقم 'خضراوی' از الگوی خاصی پیروی می‌کند و از مراحل اولیه میزان آن‌ها کم و در مراحل رسیدن و بلوغ میوه میزان این آنزیم‌ها افزایش می‌یابد. در واقع، سلولاز پیوندهای گلوکوزیدی b1,4 سلولز را می‌شکند (AbuBakr2003 et al., 2003). فعالیت سلولاز در طول رسیدن گواوا افزایش می‌یابد و بین افزایش فعالیت سلولاز و نرمی گوشت همبستگی بسیار بالا وجود دارد (Rastegar et al., 2012).

اینورتاز یکی از مهم‌ترین آنزیم‌هایی است که در میوه خرما یافت می‌شود و تأثیر زیادی بر کیفیت دارد. این آنزیم، ساکارز را به منوساکاریدها (گلوکز و فروکتوز) تبدیل می‌کند. تحقیقات زیادی در

مورد تغییرات فعالیت آنزیم‌های سلولاز و اینورتاز در طول رسیدن خرما از ارقام مختلف انجام شده است. در مراحل اصلی (کیمری، خلال، رطب و تمار)، فعالیت آنزیم اینورتاز و سلولاز افزایش یافته و در پایان مرحله تمار به بالاترین حد می‌رسند، البته در مرحله تمار نسبت به رطب با سرعت کمتری افزایش یافته است، یافته‌های فدهیل و همکاران (Fadhil et al., 2023) با این تحقیق در یک راستا است. فعالیت آنزیم سلولاز در طول رسیدن گواوا، آووکادو و خرما افزایش می‌یابد (Rastegar et al., 2012; AbuBakr et al., 2003). مطالعاتی که روی ارقام خرما دگلت‌نور و سودانی انجام شد، مشخص گردید که سلولاز در مراحل اولیه وجود ندارد یا بسیار کم بوده و سپس در آخرین مرحله بلافاصله قبل از اینکه سفتی میوه کم شود، افزایش یافته است (Rastegar et al., 2012).

جدول ۶- اثر متقابل تنک دستی × شیمیایی میوه خرما رقم خضاروی در مرحله رطب بر شاخص های درصد مواد جامد محلول، pH میوه، درصد اسیدیته کل میوه، طعم میوه، میزان فعالیت آنتی-اکسیدانی، فنل کل، میزان تانن محلول و اسیدآسکوربیک در سال های اول و دوم

سال Year	تنک دستی a (Hand thinning)	تنک شیمیایی b (Chemical thinning)	مواد جامد محلول TSS (%)	pH	اسیدیته کل میوه Total acidity (%)	شاخص میوه TSS/TA	فعالیت آنتی اکسیدانی Antioxidant activity (%)	فنل کل Total phenolic (mg.g ⁻¹)	میزان تانن محلول Soluble tannin (mg.g ⁻¹)	اسید آسکوربیک Vitamin C (mg.g ⁻¹)
1	0	0	47ef*	7.21de	1.81a	26.18ab	35.3a	0c	1.32ab	5.6a
	0	1	47.3def	7.32cd	1.92a	24.65b	30.5a	0c	0.88d	5.7a
	0	2	46f	7.32cd	1.92a	24.41b	32.5a	0c	1.42a	5.77a
	1	0	49cd	7.16e	2.026a	24.33b	31.3a	0.003c	0.91cd	5.9a
	1	1	48de	7.4ab	1.706a	28.26ab	35.3a	0.009b	0.78d	5.4a
	1	2	50bc	7.26cde	1.92a	26.5ab	37.7a	0.016a	0.78d	5.57a
	2	0	51b	7.45ab	1.706a	30.14a	30.16a	0.016a	0.87d	5.47a
	2	1	48de	7.52a	1.92a	25ab	34.1a	0.001c	1.02bcd	5.7a
	2	2	56a	7.34bc	2.026a	27.75ab	32.5a	0.004c	1.23abc	5.87a
	0	0	55abc	7.62e	0.96ab	57.29ab	37.3ab	0.006b	2.58a	5.47ab
2	0	1	54bc	7.7de	1.06a	51.56b	33.7b	0.003b	2.92a	5.5ab
	0	2	52c	7.72cde	0.85ab	63.36ab	32.9b	0.003b	3.31a	5.6ab
	1	0	54bc	7.83bcd	0.85ab	65.62ab	39.2ab	0.004b	3.21a	5.8a
	1	1	55abc	7.87b	0.96ab	57.29ab	38.5ab	0.014a	2.96a	5.37ab
	1	2	57.3ab	7.84bc	0.96ab	66.14ab	35.7ab	0.012a	2.97a	5.3ab
	2	0	58a	8.02a	0.85ab	70.83ab	43.2a	0.014a	3.03a	5.2b
	2	1	54bc	7.94ab	0.85ab	65.62ab	34.5b	0.013a	2.77a	5.4ab
	2	2	56ab	7.85bc	0.75b	77.95a	43.2a	0.003b	3.1a	5.5ab

* در هر ستون، میانگین هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، در سطح احتمال پنج درصد با استفاده از آزمون LSD اختلاف معنی داری با هم ندارند.
* In each column, means with at least one common letter do not show significant difference at the 5% of probability level based on LSD test.

جدول ۷- اثر متقابل تنک دستی × شیمیایی میوه خرما رقم خضراوی در مرحله رطب بر شاخص های آنزیم های پلی گالاکتروناز، پکتین متیل استراز، سلولاز و اینورتاز و قندهای احیاء، غیراحیاء و کل در سال های اول و دوم

سال Year	دستی a (Hand thinning)	تنک شیمیایی b (Chemical thinning)	تنک پلی گالاکتروناز Polygalacturonase (U.g ⁻¹)	آنزیم پلی گالاکتروناز	پکتین متیل استراز Pectin methyl esterase (U.g ⁻¹)	آنزیم پکتین متیل استراز	آنزیم سلولاز Cellulase (U.g ⁻¹)	آنزیم اینورتاز Invertase (U.g ⁻¹)	قند احیاء Reducing sugars (%)	قند غیر احیاء Non-reducing sugars (%)	کل قند Total sugars (%)
1	0	0	34.9abc*	14b	37.3f	175.4d	31.4de	12.2b	44.8d	44.8d	44.8d
	0	1	38.6a	9d	52.08ef	177.2d	32.3cd	16.9ab	50.7b	50.7b	50.7b
	0	2	36.4ab	12c	83.7bc	198.7cd	34.7ab	15.4ab	47.7c	47.7c	47.7c
	1	0	33.9bcd	12c	69.8dc	184.9d	35.3a	14.4b	46.9cd	46.9cd	46.9cd
	1	1	30.9d	14b	85.07bc	224.3bc	32.9bcd	12.4b	46.1cd	46.1cd	46.1cd
	1	2	31.5cd	16a	92.8ab	254.1a	34.4abc	20.4a	53.4a	53.4a	53.4a
	2	0	33.8bcd	16a	102.4a	228.02ab	35.6a	14.4b	47.7c	47.7c	47.7c
	2	1	34.05bcd	16a	71.6dc	229.8ab	34.6ab	12.2b	47.3c	47.3c	47.3c
	2	2	37.4ab	16a	59.89de	212.4bc	29.7e	11.9b	46.4cd	46.4cd	46.4cd
	0	0	30.4b	15.3a	45.14c	181.3d	29.8b	11.3bc	42.2c	42.2c	42.2c
2	0	1	35.68a	12bc	44.7c	178.6d	30.9ab	17.99ab	47.8ab	47.8ab	47.8ab
	0	2	34.1ab	13.3abc	70.74b	185.9cd	30.9ab	11.8bc	44.2bc	44.2bc	44.2bc
	1	0	34.16ab	12bc	73.35b	190bcd	30.9ab	11.5bc	41.2c	41.2c	41.2c
	1	1	32.97ab	11.3c	73.35b	189.6bcd	32.4ab	10.8c	43.2bc	43.2bc	43.2bc
	1	2	34.2ab	14abc	72.48b	214.7abc	31.3ab	23.2a	51.8a	51.8a	51.8a
	2	0	33.6ab	14.7ab	98.09a	203.3abcd	33.8a	13.4bc	44.3bc	44.3bc	44.3bc
	2	1	32.5ab	14.7ab	86.8ab	219.3a	31.3ab	12.9bc	45.3bc	45.3bc	45.3bc
	2	2	34.96a	14abc	74.6b	216.1ab	29.8b	10.5c	44.3bc	44.3bc	44.3bc

* در هر ستون، میانگین هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، در سطح احتمال پنج درصد با استفاده از آزمون LSD اختلاف معنی داری با هم ندارند.
* In each column, means with at least one common letter do not show significant difference at the 5% of probability level based on LSD test.

جدول ۸- اثر متقابل تنک دستی × شیمیایی میوه خرما رقم خضراوی در مرحله تمار بر شاخص های درصد مواد جامد محلول، pH، درصد اسیدیته کل میوه، طعم میوه، میزان فعالیت آنتی اکسیدانی، فنل کل، میزان تانن محلول و اسید اسکوریک در سال های اول و دوم

Table 8- The interaction effect of hand × chemical thinning of the fruit of Khadravi cultivar in tamar stage on the indices of the percentage of soluble solids, fruit pH, total fruit acidity, fruit flavor, antioxidant activity, Total phenol, amount of soluble tannin and ascorbic acid in the first and second years

سال Year	دستی a (Hand thinning)	تنک شیمیایی b (Chemical thinning)	مواد جامد محلول TSS (%)	pH	مجموعه کل میوه Total acidity (%)	شاخص طعم TSS/TA	فعالیت آنتی اکسیدانی Antioxidant activity (%)	فنل کل Total phenolic (mg.g ⁻¹)	میزان تانن محلول Soluble tannin (mg.g ⁻¹)	اسید اسکوریک Vitamin C (mg.g ⁻¹)
1	0	0	65ab*	7.51a	1.6d	40.62a	19.05a	0d	0.17fg	4.6ab
	0	1	59abc	7.56a	1.706c	34.86ab	17.8a	0d	0.3a	4.8ab
	0	2	50.3c	7.52a	1.92b	26.21d	21.8a	0d	0.26bc	4.3b
	1	0	65ab	7.55a	1.92b	33.85abc	19.8a	0.003bcd	0.18ef	4.5ab
	1	1	54.3bc	7.51a	2.24a	24.25d	11.5a	0.004bc	0.14g	5.3a
	1	2	62abc	7.56a	2.24a	27.67cd	17.06a	0.01a	0.22de	4.5ab
	2	0	59.3abc	7.51a	2.24a	26.48d	21.03a	0.002cd	0.23cd	4.5ab
	2	1	68a	7.4a	2.24a	30.35bcd	17.5a	0.003bcd	0.29ab	5ab
	2	2	64.3ab	7.44a	2.24a	28.72bcd	17.8a	0.007b	0.25bcd	4.6ab
	0	0	60a	7.53ab	1.17ab	52.08ab	16.7a	0c	0.43b	4.5a
	0	1	59a	7.57ab	1.28a	46.09b	12.7a	0c	0.75a	4.4a
	0	2	59a	7.57ab	1.07ab	56.42ab	19.8a	0.007ab	0.76a	4.3a
2	1	0	60a	7.64a	1.07ab	57.2ab	13.5a	0.005abc	0.55ab	4.4a
	1	1	60a	7.59ab	1.07ab	57.46ab	13.8a	0.005abc	0.44b	4.6a
	1	2	60a	7.59ab	0.96b	62.5a	21.8a	0c	0.56ab	4.2a
	2	0	60a	7.55ab	1.17ab	51.99ab	23.8a	0.0003c	0.6ab	4.2a
	2	1	58a	7.52b	1.17ab	50.26ab	24.2a	0.002bc	0.64ab	4.6a
	2	2	59a	7.54ab	1.07ab	56.25ab	15.8a	0.009a	0.56ab	4.4a

* در هر ستون، میانگین هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، در سطح احتمال پنج درصد با استفاده از آزمون LSD اختلاف معنی داری با هم ندارند.

*In each column, means with at least one common letter do not show significant difference at the 5% of probability level based on LSD test.

جدول ۹- اثر متقابل تنک دستی × شیمیایی میوه خرما رقم 'خضراوی' در مرحله تیمار بر شاخص های آنزیم های پلی گالاکتروناز، پکتین متیل استراز، سلولاز و اینورتاز و قندهای احیاء، غیر احیاء و کل در سال های اول و دوم

Table 9- The interaction effect of hand × chemical thinning of the fruit of Khadravi cultivar in tamar stage on the indices of the poly-galacturonase, pectin-methyl-esterase, cellulase and invertase enzymes and reducing, non-reducing and total sugars in the first and second years

سال Year	دستی a (Hand thinning)	تنک شیمیایی b (Chemical thinning)	آنزیم پلی گالاکتروناز Polygalacturonase e (U.g ⁻¹)	آنزیم پکتین متیل استراز Pectin methyl esterase (U.g ⁻¹)	آنزیم سلولاز Cellulase (U.g ⁻¹)	آنزیم اینورتاز Invertase (U.g ⁻¹)	قند احیاء Reducing sugars (%)	قند غیر احیاء Non-reducing sugars (%)	قند کل Total sugars (%)
1	0	0	42.2a*	15.03a	78.1cd	261.9a	35.2c	8.6a	47.3 bc
	0	1	44.3a	13.9ab	100.7ab	271.5a	42.7a	10.6a	48.5 bc
	0	2	43.17a	13.2b	95.5abcd	260.5a	36.3bc	7.5a	48.5 bc
	1	0	41.4a	15.4a	74.6d	260.1a	38.5b	12.9a	51.3a
	1	1	42.5a	15.4a	98.09abc	264.6a	41.6a	9.3a	49.3ab
	1	2	44.36a	15.4a	108.1a	252.3a	36.4bc	7.7a	46.5 c
	2	0	43.18a	14.3ab	98.5abc	261.4a	38.5b	11.3a	48.5 bc
	2	1	42.9a	14.3ab	98.9abc	251.3a	36.7bc	12.4a	50.8a
2	2	2	43. 7a	15.4a	85.5bcd	269.7a	43.3a	9.9a	48.6bc
	0	0	37.2d	16.1a	91.6ab	261.9ab	37.3ab	6b	45.3bc
	0	1	40.8c	15.03ab	100.3ab	253.6b	41.2a	8ab	45.3bc
	0	2	44.8a	14.7b	100.3ab	274.7a	37.3ab	2.95b	42.2c
	1	0	41.8bc	15.03ab	100.7ab	268.7ab	35.8ab	5b	44.2bc
	1	1	44.4ab	15.4ab	95.1ab	267.4ab	39.3ab	5b	44.3bc
	1	2	43.4abc	15.8ab	86.8b	254.6b	39.3ab	9.3ab	46.6b
	2	0	44.7a	15.4ab	81.6b	256.4ab	33.8b	7ab	44.3bc
	2	1	43.8ab	15.4ab	108.5a	267.8ab	37.3ab	13.7a	51.6a
	2	2	44.6ab	15.4ab	96.7ab	259.2ab	41.2a	9.5ab	45.3bc

* در هر ستون، میانگین هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، در سطح احتمال پنج درصد با استفاده از آزمون LSD اختلاف معنی داری با هم ندارند.
* In each column, means with at least one common letter do not show significant difference at the 5% of probability level based on LSD test.

نتیجه گیری

تنک درختان میوه باعث بهبود خصوصیات کیفی و کمی میوه می گردد. نتایج این بررسی نشان داد که تنک شیمیایی و دستی خرماي رقم 'خضراوی' باعث بهبود صفات کیفی نظیر فنل کل، تانن محلول، اسیدآسکوربیک و فعالیت آنزیم های پلی گالاکتورناز، پکتین متیل استراز و درصد قندهای احیاء و کل میوه در مرحله تمار می شود. به طور کلی، نتایج این پژوهش نشان داد که تنک دستی با حذف ۲۵ درصد از کل خوشه چه ها و تنک شیمیایی با غلظت ۱۰۰ میلی گرم در لیتر نفتالین استیک اسید موجب بهبود کیفیت میوه

خرمای رقم 'خضراوی' گردید، لذا این دو تیمار قابل توصیه به نخل کاران می باشد.

سپاسگزاری

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز به خاطر تأمین منابع مالی اجرای این پژوهش و دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان به خاطر در اختیار گذاشتن نخلستان جهت اجرای پژوهش سپاسگزاری می شود.

References

- 1- Abu-Bakr, A., Abu-Goukh, H., & Bashir, A. (2003). Changes in pectic enzymes and cellulase activity during guava fruit ripening. *Food Chemistry*, 83, 213–218. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00067-0](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00067-0)
- 2- Alikhani-Koupaei, M., Aghdam, M.S., & Faghih, S. (2020). Physiological aspects of date palm loading and alternate bearing under regulated deficit irrigation compared to cutting back of bunch. *Agricultural Water Management*, 232, 106035. <https://doi.org/10.1016/j.agwat>
- 3- Al-Saikhan, M.S., & Sallam, A.A. (2015). Impact of chemical and non-chemical thinning treatment on yield and fruit quality of date palm. *Journal of Food and Research*, 4(4), 18-24. <https://doi.org/10.5539/jfr.v4n4p18>
- 4- Amira, E.A., Guido, F., Behija, S.E., Manel, I., Nesrine, Z., Ali, F., Mohamed, H., Nouredine, H.A., & Lotfi, A. (2011). Chemical and aroma volatile compositions of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) fruits at three maturation stages. *Food Chemistry*, 127, 744–754. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.02.051>
- 5- AOAC. (1995). AOAC official method 942. 15. In P. cunniff (Ed.), AOAC official methods of analysis of AOAC international. USA: AOAC international.
- 6- Atawia, A.A.R.El., El-Akkad, T.A.M., & Hassan, T.M. (2020). effect of thinning treatments on some physical and chemical fruit characters of Barhy and Magdool date palm cultivars. *Annals of Agricultural Science, Moshtohor*, 58(2), 339–350.
- 7- Awad, M.A., Al-Qurashi, A.D., & Mohamed, S.A. (2011). Antioxidant capacity, antioxidant compounds and antioxidant enzyme activities in five date cultivars during development and ripening. *Scientia Horticulturae*, 129, 688-693. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2011.05.019>
- 8- Awang, Y.B., Chuni, S.H., Mohamed, M.T.M., Hafiza, Y., & Mohamad, R.B. (2013). Polygalacturonase and pectin, methylsterase activities of CaCl₂ treated red-fleshed dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) harvested at different maturity, *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 8(2), 167-172. <https://doi.org/10.3844/ajabssp.2013.167.172>
- 9- Bakr, E.I., El-Kasary, S., El Banna, A., & Ghazawy, H.S. (2005). Effect of NAA on fruit setting, bunch weight and fruit characteristics of Samani and Zaghloul date palm cultivars. *Journal of Agricultural Sciences. Mansoura University*, 30(12). <https://doi.org/10.21608/jpp.2005.237937>
- 10- Barrevel, W.H. (1993). *Date Palm Products*. Agricultural Services Buletin, 101: 216. F.A.O. Rome.
- 11- Bashir, M.A., Ahmad, M., Altaf, F., & Shabir, K. (2014). Fruit quality and yield of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) as affected by strand thinning. *The Journal of Animal and Plant Sciences*, 24(3), 951-954.
- 12- Chea, S., Yu, D.J., Park, J., Oh, H.D., Chung, S.W., & Jae Lee, H.J. (2019). Fruit softening correlates with enzymatic and compositional changes in fruit cell wall during ripening in 'Bluecrop' highbush blueberries. *Scientia Horticulturae*, 245 163–170. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.10.019>
- 13- Dhinesh Babu, K., & Yadave, D.S. (2004) Physical and chemical thinning of peach in subtropical north eastern India. *Acta Horticulturae*, 662, 327-331. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2004.662.48>
- 14- Fadhil, A.A., Samar, J.M., Omnia, H.D., & Fayed, N.I.A. (2023). Effect of agricultural processing on ripening enzymes in date palm: a review. *Plant Biotechnology Persa*; 5(1), 14-19. <https://doi.org/10.52547/pbp.5.1.3>
- 15- FAO. Food and Agriculture Organization. 2021. <http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor>
- 16- Gross, K.C. (1982). A rapid and sensitive spectrophotometric method for assaying polygalacturonase using 2-cyanoacetamide. *Hortscience*, 17, 933-934.
- 17- Hasegawa, S., & Smolensky, D.C. (1971). Cellulase in dates and its role in fruit softening. *Journal of Food Science*, 36, 966–967. <https://doi.org/10.1021/jf60171a036>
- 18- Hashempour, M. (1999). *Ghanjine khorma*. Nashr Amozesh Keshavarzi Karaj, Iran. pp. 668. (In Persian)

- 19- Hassaballa, L.A., Ibrahim, M.M., Sharaf, M.M., Abdel-Aziz, A.Z., & Hagagy, N.A. (1983). Fruit physical and chemical characteristics of "Zaghloul" date cultivar in response to some fruit thinning treatments. *Annals Agricultural Science*, 20(3), 3-14.
- 20- Hussein, F. (1970). Effect of fruit thinning on size, quality and ripening of Sakkoti dates grown at Aswan. *Tropical Agriculture*, 47(2), 163-66.
- 21- Jalali, M., Moalemi, N., & Mortazavi, M.H. (1998). The effect of gibberellic acid and benzyl adenine on quantitative and qualitative traits in Ahvaz. *Journal of Plant Production*, 37, 105-114. (in Persian with English abstract).
- 22- Kamiab, F., Tavassolian, I., & Hosseinfarahi, M. (2023). Changes in the quantitative and qualitative characteristics of seedless barberry (*Berberis Vulgaris* L.) fruit as influenced by fruit thinning. *Journal of Horticulture and Postharvest Research*, vol. 6(1), 77-92. <https://doi.org/10.22077/jhpr.2022.5416.1279>
- 23- Kanner, J., Elemaleh, H., Reuveni, O., & Ben-Gera, I. (1978). Invertase (β -fructofuranosidase) activity in three date cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 26, 504-508.
- 24- Khaje Zade, S., Moallemi, N.A., & Mortazavi, S.M.H. (2018). The effect of foliar application of naphthalene acetic acid and potassium sulfate on quantitative and qualitative characteristics Pearl tangerine variety Tangelo. *Pomology Research*, 3(2), 16-26. (in Persian with English abstract).
- 25- Moallemi, N., Khaleghi, E. & Rezazadeh Kavari, M. (2023). The effect of chemical and hand cluster thinning on some quantitative and qualitative characteristics of date palm fruits cv. Estameran. *Journal of Plant Production Research*, 30(4), 137-152. (in Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22069/JOPP.2023.21255.3032>
- 26- Mohamadi, A., Abotalebi, A., Hassanzade, H., & Mohamadi, M. (2008). Investigating the effect of plant growth regulators on quantitative and qualitative characteristics Shahani dates. *Journal of Research in Agricultural Sciences*, 4(2), 204-212. (in Persian with English abstract).
- 27- Mostofi, Y., & Najafi, F. (2005). *Laboratory Manual of Analytical Techniques in Horticulture*. Tehran University, Tehran, Iran. 1, 1-136. (in Persian with English abstract).
- 28- Moustafa, A. A. (1997). *Studies on Fruit thinning of date palms*. Department of Horticulture. Faculty of Agriculture, El-Fayoum, Cairo University, Egypt. pp 354-364.
- 29- Moustafa, A.R., Abdel-Hamid, N., Abd El-Hamid, A., El-Sonbaty, M.R., & Abd El-Naby, S.K.M. (2019). *Bulletin of the National Research Centre*, 3, 204. <https://doi.org/10.1186/s42269-019-0234-3>
- 30- Ramazanian, A., & Rahemi, A. (2006). The role of chemical and hand fruit thinning on flower bud retention and pistachio nut quality improvement. *Journal of Science and Technology of Agriculture And Natural Resource*; 10, (4), 135-145. (in Persian with English abstract).
- 31- Ranganna, S. (1979). *Manual of Analysis of Fruit and Vegetable Products*, 2nd Ed. Tata McGraw-Hill, Publishing Company Limited, New Delhi, pp. 634.
- 32- Rastegar, S., & Rahemi, M. (2015). Comparision of physicochemical characterristic of pollinated and unpollinated Piarom and Shahani date palm during fruit growth and development. *Plant Productions*, 38(1), 65-74. (in Persian with English abstract).
- 33- Rastegar, S., Rahemi, M., Baghizadeh, A., & Gholami, M., (2012), Enzyme activity and biochemical changes of three date palm cultivars with different softening pattern during ripening. *Food Chemistry*, 134, 1279-1286. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.02.208>
- 34- Slinkard, K., & Singleton, V.L. (1977). Total phenol analyses: Automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28, 49-55. <https://doi.org/10.5344/ajev.1977.28.1.49>
- 35- Son, L. (2004). Effects of hand and chemical thinning on fruit size and quality of 'Priana' and 'Beliana' apricot (*Prunus armeniaca*) cultivars. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 32, 331-335. <https://doi.org/10.1080/01140671.2004.9514312>
- 36- Taghipour, L., Rahemi, M., & Assar, P. (2011). Thinning with NAA, NAD, ethephon, urea and by hand to improve fruit quality of 'Gerdi' apricot. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 23(4), 279-284. <https://doi.org/10.1590/S1677-04202011000400005>
- 37- Tejpal, S.B., Laxmi, R., Binayak, C., & Vikas, Y. (2018). A recent advances in use of plant growth regulators (PGRs) in fruit crops - A review. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7(5), 1307-1336. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.705.159>
- 38- Thumdee, S., Manenoi, A., Chen, N.J., & Paull, R.E. (2010). Papaya fruit softening: role of hydrolases. *Tropical Plant Biology*, 3, 98-109. <https://doi.org/10.1007/s12042-010-9048-z>
- 39- Zarbakhsh, S., & Rastegar, S. (2018). Assessment of physicochemical properties and bioactive compound of date fruit (*Phoenix dactylifera*) in two cultivars, "Piarom" and "Zahedi". *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 14(1) 177-186. <https://doi.org/10.22067/ifstrj.v14i1.60214>

Biochemical and Physiological Responses of Peppermint (*Mentha piperita* L.) Plant to Heavy Metal Stress in Urban Areas

K. Poorhossein¹, B. Abedy^{2*}, M. Shoor²

1 and 2- M.Sc. Graduate and Associate Professor, Department of Horticultural Science and Landscape Architecture, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran, respectively

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

Received: 01-05-2024
Revised: 09-06-2024
Accepted: 09-06-2024
Available Online: 09-06-2024

How to cite this article:

Poorhossein, K., Abedy, B., & Shoor, M. (2024). Biochemical and physiological responses of peppermint (*Mentha piperita* L.) plant to heavy metal stress in urban areas. *Journal of Horticultural Science*, 38(4), 675-692. (In Persian with English abstract).
<https://doi.org/10.22067/jhs.2024.87813.1341>

Introduction

Urban agriculture, as one of the basic features of urban planning, helps to increase the quality of urban life due to its cultural, economic and social benefits. However, pollution with heavy metals in cities causes the accumulation of these metals in different parts of planted plants and also the risk of consuming them for food in urban green spaces.

Materials and Methods

This study was conducted to assess the amount of heavy metal absorption and its effect on some biochemical and physiological properties of peppermint plant (*Mentha piperita* L.), in Mashhad city in 2021. The experiment was carried out as a factorial based on randomized complete block design with three replications. The first factor (location) were phase 4 Park (with high degree of contamination) and Nasim Park (with low degree of contamination). The second factor was the times of harvest (June15, July15 and August 15). At the time of every harvest fully developed leaves were collected to evaluate the traits.

Results and Discussion

The results of analysis of variance indicated that the effect of location was significant on all traits except for the yield of essential oil. Also, the effect of harvest time was significant on all traits except for peroxidase activity and the yield of essential oil. However, the interaction of location and harvest was significant only on phenol, flavonoid, proline, cadmium and lead concentration. The results indicated that the ascorbate peroxidase, catalase and peroxidase activities were higher in phase 4 Park. Moreover, the highest activities of ascorbate peroxidase, catalase and peroxidase were recorded in phase 4 + first harvest. Heavy metals cause the production of reactive free radicals and also increase the activity of antioxidant enzymes. However, the chlorophyll a, b, carotenoid and total chlorophyll contents were higher in Nasim. Thus, the highest contents of Chl_a, Chl_b, Chl_{total} and carotenoid were observed in Nasim + first harvest. The higher amount of chlorophyll and carotenoids in the first harvest is due to the optimal growth conditions such as day length and sunlight and ambient temperature. In addition, total phenol, flavonoid, proline, Cd and Pb elements indicated a reducing trend in phase 4 compared to Nasim Park in different harvest times, but the amount of these traits were higher in the first harvest than in the subsequent harvests. Increased amount of total phenol in the first harvest can be related to the high air temperature at the first harvest which caused stressful conditions in this stage. Proline production also increases under heavy metal stress to help protect the plant against toxicity. However, the percentage of essential oil showed an increasing trend with enhanced absorption of Pb and Cd in phase 4 compared to Nasim Park. The higher percentage of essential oil in phase 4 may be attributed to reduced leaf growth due to the higher presence of heavy metals in that area.



©2024 The author(s). This is an open access article distributed under [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

<https://doi.org/10.22067/jhs.2024.87813.1341>

Conclusions

Overall, while the concentration of Pb exceeded the global standard level in both parks, contamination with Cd and Pb (especially Pb) was greater in phase 4 than in Nasim Park, contributing to reduced growth traits in peppermint plants. Regarding harvest times, the first harvest exhibited better growth characteristics and higher absorption of heavy metals due to the plant's greater vigor. In contrast, the third harvest showed lower growth characteristics and weaker absorption of Pb and Cd, likely due to the energy expended for regrowth.

Keywords: Antioxidant enzymes, Cadmium, Green space, Growth traits, Lead

پاسخ‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی گیاه نعنا فلفلی (*Mentha piperita* L.) به تنش فلزات سنگین در محیط‌های شهری

کیوان پورحسین^۱ - بهرام عابدی^{۲*} - محمود شور^۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۲/۱۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۲۰

چکیده

کشاورزی شهری به‌عنوان یکی از ویژگی‌های اساسی برنامه‌ریزی شهری، به‌علت داشتن مزایای فرهنگی، اقتصادی و اجتماعی به افزایش کیفیت زندگی شهری کمک می‌کند. با این حال، آلودگی به فلزات سنگین در شهرها موجب تجمع این فلزات در قسمت‌های مختلف گیاهان کاشته شده و نیز خطر مصرف خوراکی آن‌ها را در فضای سبز شهری در پی خواهد داشت. این تحقیق به منظور ارزیابی میزان جذب عناصر سرب و کادمیوم و تأثیر آن روی برخی از خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه نعنا فلفلی (*Mentha piperita* L.) در دو بوستان از فضای سبز شهری منطقه نه مشهد (بوستان فاز چهار کلانتری و بوستان نسیم) اجرا گردید. این گیاه که به‌عنوان یک گیاه پوششی دارای رشد سریع است که علی‌رغم زیبایی در شکل برگ‌ها و ایجاد رایحه مطبوع برای مخاطبان بوستان‌ها، توانایی تولید محصول را نیز به‌صورت اقتصادی دارد، به‌عنوان گیاه هدف انتخاب شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار شکل گرفت. عامل اول مکان، که دو بوستان فاز چهار کلانتری (به‌عنوان منطقه با درجه آلودگی بالاتر) و نسیم (به‌عنوان منطقه با درجه آلودگی کمتر) با توجه به آنالیز خاک، در نظر گرفته شدند. عامل دوم نیز زمان برداشت (۱۵ خرداد، ۱۵ تیر و ۱۵ مرداد) در نظر گرفته شد. نتایج حاکی از آن بود که در بوستان فاز چهار، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و پراکسیداز بالاتر بود. از سوی دیگر، محتویات غلظت کلروفیل‌های a، b و کاروتنوئید و کلروفیل کل در بوستان نسیم بالاتر بود. علاوه‌براین، در بوستان فاز چهار نسبت به بوستان نسیم در زمان برداشت، محتوای فنل کل، فلاونوئید، پرولین، غلظت عناصر کادمیوم و سرب روند کاهشی داشت، اما میزان این صفات در برداشت اول نسبت به برداشت‌های بعدی بیشتر بود. درصد اسانس نیز با افزایش جذب عناصر سرب و کادمیوم در بوستان فاز چهار نسبت به بوستان نسیم روند افزایشی نشان داد. به‌طور کلی، می‌توان بیان داشت که آلودگی به فلزات سنگین سرب و کادمیوم در بوستان فاز چهار نسبت به بوستان نسیم بیشتر بود که خود عاملی در جهت کاهش خصوصیات رشدی گیاه نعنا فلفلی گردید.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، خصوصیات رشدی، سرب، فضای سبز، کادمیوم

مقدمه

گرفت. از این‌رو، رژیم غذایی سالم برای بسیاری از ساکنان شهری به‌دلیل درآمد محدود، افزایش هزینه‌های غذا و دسترسی ناعادلانه به غذاهای سالم از نظر فرهنگی محدود می‌گردد (United Nations, 2018). به همین دلیل طی چند سال اخیر، کشاورزی شهری به‌دلیل مزایای اقتصادی، اجتماعی و فرهنگی آن اهمیت قابل توجهی یافته است (Montaño López & Biswas, 2021). با این وجود، مطالعات نشان داده‌اند که خاک‌های شهری می‌توانند دارای غلظت بالایی از عناصر کمیاب خاص باشند (Heidary Monfared, 2011). آلودگی خاک شهری توسط فلزات سنگین در این مناطق بسیار نگران‌کننده است، زیرا ممکن است خطر بالقوه‌ای برای سلامتی انسان داشته باشند (He et al., 2015). به‌طور کلی، فلزات سنگین توسط گیاه از

کشاورزی شهری، یکی از ویژگی‌های اساسی برنامه‌ریزی شهری (Antisari et al., 2015) بوده که به افزایش کیفیت زندگی شهری از طریق کاهش آلودگی آب‌وهوای شهر، حفظ و افزایش تنوع زیستی و همچنین استفاده مجدد از زباله‌های شهری کمک می‌کند (La Greca et al., 2011). طبق پیش‌بینی‌های سازمان ملل، بیش از ۶۵ درصد از جمعیت جهان تا سال ۲۰۵۰ در مراکز شهری قرار خواهند

۱ و ۲- به‌ترتیب دانش آموخته کارشناسی ارشد و دانشیار، گروه علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
(*) نویسنده مسئول: (Email: Abedy@um.ac.ir)
<https://doi.org/10.22067/jhs.2024.87813.1341>

به منظور بررسی آلودگی فلزات سنگین و تعیین اثرات آن‌ها بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و همچنین غلظت کادمیوم و سرب در گیاه نعنا فلغلی کشت شده در فضای سبز شهری انجام شد.

مواد و روش‌ها

مشخصات طرح و محل آزمایش

این مطالعه به منظور ارزیابی میزان جذب فلزات سنگین و تأثیر آن روی برخی خصوصیات بیوشیمیایی گیاه نعنا فلغلی در شهرستان مشهد طی سال ۱۴۰۱ انجام شد. آزمایش به صورت فاکتوریل دو عاملی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار اجرا شد. بدین منظور، در هر آدرس سه پلات به ابعاد 10×70 با فاصله حداقل پنج متر از هم در نظر گرفته شد و سپس در پنجم اردیبهشت ماه نسبت به کاشت ریزوم‌ها به فواصل ۲۰ سانتی‌متر از هم اقدام گردید. عامل اول شامل دو لکه فضای سبز در منطقه نه شهرداری مشهد، بوستان فاز چهار کلانتری (با طول و عرض جغرافیایی به ترتیب $36^{\circ}29'$ و $59^{\circ}54'$) با درجه آلودگی بالا و بوستان نسیم (با طول و عرض جغرافیایی به ترتیب $36^{\circ}32'$ و $59^{\circ}17'$) با درجه آلودگی کم، در نظر گرفته شد. داده‌های مربوط به میزان آلودگی فلزات سرب و کادمیوم دو منطقه مذکور در جدول آنالیز خاک آمده است (جدول ۱). عامل دوم نیز شامل زمان برداشت (۱۵ خرداد، ۱۵ تیر و ۱۵ مرداد) بود، به طوری که در زمان برداشت اول ۴۰ روز از کاشت ریزوم‌ها گذشته بود. آبیاری به روش رایج و با آب شهری به صورت شلنگی انجام شد و سعی گردید که شرایط نگهداری یکسانی برای گیاه در نظر گرفته شود. در هر زمان برداشت، از جوان‌ترین برگ‌های توسعه یافته جهت بررسی صفات رویشی، فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و غلظت عناصر کادمیوم و سرب استفاده شد.

اندازه‌گیری آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

فعالیت کاتالاز (EC 1.11.1.6) مطابق با روش ولیکوا و همکاران (Velikova et al., 2000) ارزیابی شد. میزان جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر در یک دقیقه و میکرومول هیدروژن پراکسید مصرف شده در دقیقه به عنوان یک واحد کاتالاز تعریف می‌شود (ضریب خاموشی ۴۰ میلی‌مولار در سانتی‌متر).

فعالیت گایاکول پراکسیداز (EC 1.11.1.7) براساس روش اسرینیواس و همکاران (Srinivas et al., 1999) براساس شکل‌گیری تتراگایاکول با جذب در ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. یک واحد فعالیت پراکسیداز نشان‌دهنده فعالیت آنزیم که یک میکرومول گایاکول را در یک دقیقه اکسید کند، تعریف می‌شود.

محلول خاک جذب شده (Sarwar et al., 2010) و در بافت‌های ریشه تجمع یافته یا به بخش‌های هوایی گیاه منتقل می‌شوند (Sarwar et al., 2017). همچنین، فلزات سنگین مانند آهن، کادمیوم، سرب، مس، کروم، نیکل، روی و منگنز از آلیاژ، لاستیک‌ها و لوله‌های وسایل نقلیه به محیط اطراف جاده آزاد می‌شوند (Osman, 2018). فلزات سنگین سمی مانند سرب و کادمیوم به دلیل عدم تجزیه زیستی، در موجودات زنده انباشته شده و متعاقباً باعث ایجاد بیماری‌ها و اختلالات مختلف حتی در غلظت‌های نسبتاً پایین‌تر می‌گردند (Pahlavan Rad et al., 2009). آلودگی سرب و کادمیوم در گیاهان موجب توقف رشد، کاهش طول ریشه، تغییر نفوذپذیری غشاء سلولی، کاهش محتوای آب، اختلال در تغذیه معدنی و در نتیجه، کاهش عملکرد گیاه می‌گردد (Zhao et al., 2021) و با افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی را مختل کند (Gallego & Benavides, 2019).

نعنا فلغلی (*Mentha piperita* L.)، از تیره نعنیان (Lamiaceae) است. اسانس این گیاه به دلیل خصوصیات ضد عفونی‌کنندگی می‌تواند به بهبود سردرد سینوزیتی و جلوگیری از پوسیدگی دندان کمک کند (McKay & Bumberg, 2006). سطوح بالای فلزات سنگین باعث ایجاد کلروز و نکروز، افزایش تجمع گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و همچنین تنش اکسیداتیو در گیاهان نعنا می‌گردند (Gupta et al., 2019). در تحقیقی با هدف تعیین غلظت فلزات سنگین کادمیوم و سرب در کاهو (*Lactuca sativa* L.)، نعنا (*Mentha spicata* L.) و تره (*Allium iranica*) کشت شده در اراضی مختلف جنوب تهران، مشاهده شد که میانگین غلظت کادمیوم در سه گیاه در مناطق مورد مطالعه معنی‌دار بوده است، با این حال در مورد سرب اختلاف معناداری مشاهده نگردید (Giviand et al., 2011).

گیاهان مانند سایر موجودات دارای سازوکار دفاعی هستند که در شرایط تنش فعال می‌شوند تا بتوانند زنده بمانند. بدین صورت که تحت تنش، تولید گونه‌های فعال اکسیژن، سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی از جمله سوپراکسیددسموتاز، آسکوربات پراکسیداز، گایاکول پراکسیداز و کاتالاز، و متابولیت‌های غیرآنزیمی مانند کاروتنوئید، ترکیبات فنلی و فلاونوئید و پرولین افزایش می‌یابد (De Pinto & De Gara, 2004). مشخص شده است که خطر انباشته شدن آلاینده‌ها در هوا، خاک و آب می‌تواند بر کیفیت و سلامت محصول تأثیر بگذارد (Leake et al., 2009). از این رو، اتحادیه اروپا حداکثر سطوح سرب (کمتر از ۰/۱، ۰/۳ و ۰/۲ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن تر به ترتیب در حبوبات، خانواده Brassicaceae و همه سبزیجات) و کادمیوم (کمتر از ۰/۱، ۰/۳ و ۰/۲ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن تر به ترتیب در میوه، ساقه/ریشه و برگ سبزیجات) را تعریف کرده است (Antisari et al., 2015). مطالعه حاضر در مقیاس منطقه‌ای،

جدول ۱- آنالیز خاک بوستان فاز چهار و نسیم براساس غلظت عناصر سنگین سرب و کادمیوم

Table 1- Soil analysis of phase 4 and Nasim based on the concentration of lead and cadmium heavy

بلوک ۱ Block 1	کادمیوم		سرب	
	Cadmium (mg.kg ⁻¹)		Lead (mg.kg ⁻¹)	
	بوستان فاز چهار Phase 4 park	بوستان نسیم Nasim park	بوستان فاز چهار Phase 4 park	بوستان نسیم Nasim park
	0.814	0.612	193	96
بلوک ۲ Block 2	0.993	0.619	189	92
بلوک ۳ Block 3	0.921	0.657	191	91
میانگین Average	0.889	0.629	191	93

فاز رنگی در ۵۲۰ نانومتر قرائت و مقدار پرولین در واحد میلی گرم بر گرم بر وزن خشک گزارش شد (Bates et al., 1973).

اندازه گیری اسانس در گیاه

جهت اسانس گیری نمونه ها، مقدار ۳۰ گرم از نمونه خشک شده و پودر شده را همراه با ۲۰۰ میلی لیتر آب مقطر درون بالن دستگاه کلونجر ریخته و اسانس گیری انجام و در نهایت، جهت جداسازی آب از اسانس از سولفات سدیم (Na₂SO₄) استفاده شد (Singelton & Rossi, 1965). عملکرد اسانس از حاصل ضرب درصد اسانس در عملکرد اندام هوایی براساس معادله ۴ محاسبه شد.

$$(۴) = \text{عملکرد اسانس (گرم در مترمربع)} \times \text{عملکرد اندام هوایی (درصد اسانس)}$$

اندازه گیری غلظت فلزات سنگین در گیاه

برای اندازه گیری مقدار سرب و کادمیوم، نمونه های گیاهی به مدت ۲۴ ساعت در آون (۷۰ درجه سانتی گراد) قرار گرفتند. سپس ۰/۳ گرم از نمونه خشک شده در ارلن مایر ۵۰ میلی لیتری ریخته و اسیدنیتریک (۶۵ درصد) و اسیدپرکلریک (۷۰ درصد) به نسبت ۵ به ۱/۵ به آن افزوده شد. نمونه ها در حمام آب گرم (۱۰۰ درجه سانتی گراد) قرار گرفتند. در نهایت، میزان فلز با استفاده از دستگاه جذب اتمی تعیین شد (Ebrahimpour & Mushrifah, 2008).

تجزیه آماری

داده های به دست آمده توسط نرم افزار SAS (JMPver 13.2) تجزیه و میانگین صفات با آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد مقایسه شدند.

فعالیت آسکوربات پراکسیداز (EC 1.11.1.11) مطابق روش یاماگوچی و همکاران (Yamaguchi et al., 1995) اندازه گیری شد. فعالیت آسکوربات پراکسیداز وابسته به کاهش میزان جذب در ۲۹۰ نانومتر اکسیداسیون آسکوربات است (ضریب خاموشی ۲/۸ میلی مولار در سانتی متر).

اندازه گیری محتوای رنگدانه های فتوسنتزی در گیاه

جهت استخراج رنگدانه های فتوسنتزی، ۱۰۰ میلی گرم برگ تازه با استون ۸۰ درصد مخلوط شد. میزان جذب با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج های ۴۷۰، ۶۴۸ و ۶۶۴ نانومتر ثبت شد. براساس معادله های زیر غلظت کلروفیل های a، b و کاروتنوئید محاسبه گردید (Arnon, 1949).

$$Chl_a = 13.36 \times A_{664} - 5.19 \times A_{648} \quad (۱)$$

$$Chl_b = 27.43 A_{648} - 8.12 A_{664} \quad (۲)$$

$$C(x+c) = (1000 \times A_{470} - 2.13 \times Ca - 97.64 \times Cb) / 209 \quad (۳)$$

بررسی صفات بیوشیمیایی

مقدار فنل کل (TPC) از روش فولین سیکالتو (Singleton et al., 1999) و با استفاده از محلول استاندارد اسیدگالیک (GLA) اندازه گیری شد. مقدار جذب در طول موج ۷۶۵ نانومتر ثبت و سپس TPC بر حسب میلی گرم بر گرم بر وزن خشک محاسبه شد. مقدار فلاونوئید کل (TFC)، با روش رنگ سنجی آلومینیوم کلرید (AlCl₃) اندازه گیری شد. جذب در طول موج ۴۱۵ نانومتر قرائت و TFC به واحد میلی گرم بر گرم بر وزن خشک محاسبه شد (Chang et al., 2002).

برای اندازه گیری پرولین (Pro)، از معرف ناین هیدرین استفاده شد. در این روش، عصاره گیاه تهیه شده با دو میلی لیتر معرف ناین-هیدرین و اسیداستیک به مدت ۳۰ دقیقه واکنش داده و سپس جذب

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس حاکی از آن بود که اثر مکان بر همه صفات به جز عملکرد اسانس، معنی دار بود. همچنین اثر تاریخ برداشت نیز بر همه صفات به جز فعالیت پراکسیداز و عملکرد اسانس معنی دار بود (جدول ۲-).
 با این حال، برهم کنش مکان و تاریخ برداشت تنها بر فنل، فلاونوئید، پرولین، غلظت کادمیوم و سرب معنی دار بود (جدول ۲).

آنزیم‌های آنتی اکسیدانی

با توجه به شکل ۱، برداشت اول برای هر دو مکان دارای بیشترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز بود. همچنین در زمان برداشت، بیشترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در بوستان فاز چهار بود، به طوری که بیشترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در برهم کنش بوستان فاز چهار + برداشت اول (۰/۳۸ دقیقه در میلی گرم پروتئین) به دست آمد. کمترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نیز در برهم کنش بوستان فاز چهار + برداشت سوم (۰/۱۵ دقیقه در میلی گرم پروتئین) حاصل شد.

مشابه با آنزیم آسکوربات پراکسیداز، برداشت اول برای هر دو مکان دارای بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز بود. همچنین در زمان برداشت، بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز در بوستان فاز چهار بود، به طوری که بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز در برهم کنش بوستان فاز چهار + برداشت اول (۰/۲۱ دقیقه در میلی گرم پروتئین) به دست آمد، هر چند با برداشت دوم تفاوت معنی داری نداشت. کمترین فعالیت آنزیم کاتالاز نیز در برهم کنش بوستان نسیم + برداشت سوم (۰/۰۹ دقیقه در میلی گرم پروتئین) حاصل شد که با برداشت دوم در همین بوستان تفاوت معنی داری نداشت (شکل ۲).

مطابق با نتایج، بیشترین و کمترین فعالیت آنزیم پراکسیداز به ترتیب در بوستان فاز چهار (۰/۶۹ دقیقه در میلی گرم پروتئین) و بوستان نسیم (۰/۳۳ دقیقه در میلی گرم پروتئین) به دست آمد (شکل ۳).
 با این حال، نتایج نشان داد زمان برداشت در هر مکان تفاوت معنی داری در فعالیت آنزیم پراکسیداز نداشتند.

یکی از پاسخ‌های گیاهان در برابر شرایط تنش، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی است. این آنزیم‌ها با کاهش اثرات منفی گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، از پراکسیداسیون لیپیدی غشاء و نابودی سلول‌های گیاهی جلوگیری می‌کنند (Dumont & Rivoal, 2019).
 کاهش میزان این آنزیم‌های اکسیدانی در برداشت‌های دوم و سوم نسبت به برداشت اول می‌تواند به این دلیل باشد که در برداشت‌های دوم و سوم گیاه، جذب کمتری از فلزات سنگین توسط گیاه صورت گرفته و به تبع آن در شرایط تنشی کمتری نسبت به برداشت اول قرار داشته است، لذا آثار منفی ناشی از تولید ROS در

این شرایط کمتر بوده و به تبع آن میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی تولید شده نیز در سطح کمتری قرار داشتند. نتایج به دست آمده از این تحقیق با مطالعه صورت گرفته توسط امانی ماچیان و همکاران (Amani Machiani et al., 2021) در بررسی اثر زمان برداشت بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در آویشن باغی (*Thymus vulgaris*) مطابقت دارد. در مطالعه‌ای مشاهده شد که تنش کادمیوم باعث افزایش در فعالیت آنزیم‌های CAT، SOD و APX شد که می‌تواند دلیل غیرمستقیمی بر افزایش فعالیت رادیکال‌های آزاد تحت تنش کادمیوم باشد (Kavousi & Barandeh, 2016).
 سوپراکسید دیسموتاز، اولین و مهم‌ترین آنزیم در فرآیند سمیت‌زدایی ترکیبات ROS، با تبدیل رادیکال سوپراکسید به هیدروژن پراکسید، نقش حیاتی در سازوکارهای دفاعی سلول، ایفا می‌کند. هیدروژن پراکسید حاصل، در مرحله بعدی به وسیله آنزیم‌هایی نظیر کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز پاک‌سازی می‌شود (Rajput et al., 2021).
 در آزمایشی نیز مشاهده شد که میزان فعالیت آنزیم کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز تحت تنش کادمیوم در برگ‌های عدس (*Vicia lens*) افزایش پیدا کرد. القاء فعالیت کاتالاز با جلوگیری از تولید رادیکال‌های هیدروکسیل، پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و چربی‌ها را در برابر ترکیبات ROS محافظت می‌کند. همچنین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در طول فعالیت سایر آنزیم‌های آنتی-اکسیدان در پاسخ به عوامل تنش‌زا افزایش می‌یابد (Kavousi & Barandeh, 2016).
 از طرفی، عنصر کادمیوم احتمالاً با ایجاد رادیکال‌های آزاد واکنش‌پذیر، باعث پراکسیداسیون اسیدهای چرب و همچنین افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان می‌گردد (Gill & Tuteja, 2010).
 افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی تحت تنش عناصر سنگین در خردل چینی (*Brassica juncea*) و گندم (*Triticum aestivum*) مشاهده شد که با نتایج این پژوهش مطابقت دارند (Irfan et al., 2014; Çatav et al., 2020).

محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی در گیاه

با توجه به نتایج، بیشترین و کمترین میزان کلروفیل a به ترتیب در بوستان نسیم (۱/۹۹ میلی گرم بر گرم وزن تر) و بوستان فاز چهار (۱/۲۷ میلی گرم بر گرم وزن تر) بود، هر چند که برداشت‌های دوم و سوم در هر دو منطقه، تفاوت معنی داری با هم نداشتند، ولی بیشترین میزان کلروفیل a در برداشت اول به دست آمد. کمترین میزان نیز در مربوط به برداشت سوم بود (شکل ۴).

در خصوص کلروفیل b، برداشت اول برای هر دو مکان دارای بیشترین میزان بود، به طوری که بیشترین میزان کلروفیل b در برهم کنش بوستان نسیم و برداشت اول (۰/۷۱ میلی گرم بر گرم وزن تر) و کمترین میزان نیز در برهم کنش بوستان فاز چهار و برداشت

سوم (۰/۳۶ میلی گرم بر گرم وزن تر) حاصل شد (شکل ۵). همانند کلروفیل های a و b، میزان کاروتنوئید نیز در برداشت اول برای هر دو مکان دارای بیشترین میزان بود. همچنین در زمان برداشت، بیشترین میزان کاروتنوئید در بوستان نسیم بود، هرچند نسبت به زمان برداشت تفاوت معنی داری نداشت. از این رو، بیشترین میزان کاروتنوئید در برهم کنش بوستان نسیم + برداشت اول (۰/۳۹ میلی گرم بر گرم وزن تر) و کمترین میزان در برهم کنش بوستان فاز چهار + برداشت سوم (۰/۱۹ میلی گرم بر گرم وزن تر) ثبت شد (شکل ۷).

نتایج مشابهی برای میزان کلروفیل کل حاصل شد، به طوری که در زمان برداشت، بیشترین میزان کلروفیل در بوستان نسیم گزارش شد. همچنین، بیشترین میزان کلروفیل در برهم کنش بوستان نسیم و برداشت اول (۳/۰۹ میلی گرم بر گرم وزن تر) و کمترین میزان در برهم کنش بوستان فاز چهار و برداشت سوم (۱/۸۲ میلی گرم بر گرم وزن تر) به دست آمد (شکل ۶).

جدول ۲- تجزیه واریانس آنزیم های آنتی اکسیدانی، اسانس نعنا و غلظت عناصر سنگین در گیاه نعنا فلفلی تحت تأثیر مکان و زمان برداشت
Table 2- ANOVA for the antioxidant enzymes, essential oil and the concentration of heavy elements in peppermint affected by location and harvest time

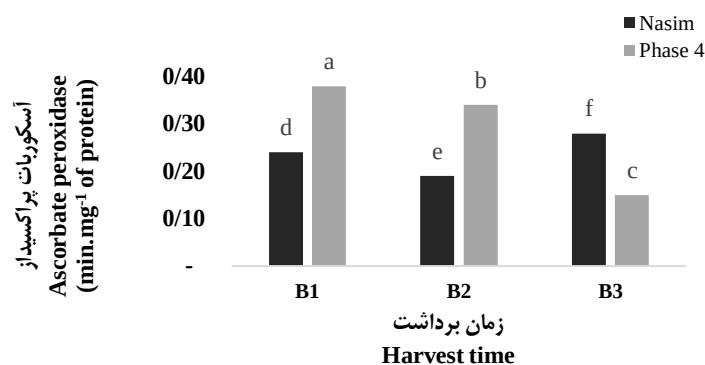
میانگین مربعات Mean square								
منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	کادمیوم Cadmium	سرب Lead	اسانس Essential oil	عملکرد اسانس Essential oil yield	آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase	کاتالاز Catalase	پراکسیداز Peroxidase
بلوک Block	2	0.007 ^{ns}	3.38 ^{**}	0.006 ^{ns}	0.0007 ^{ns}	0.0005 ^{ns}	0.0003 ^{ns}	0.0005 ^{ns}
مکان Location (L)	1	1.280 ^{**}	3793.20 ^{**}	0.672 ^{**}	0.0012 ^{ns}	0.088 ^{**}	0.0288 ^{**}	0.02738 ^{**}
زمان برداشت Harvest time (H)	2	0.2038 ^{**}	264.48 ^{**}	0.206 ^{**}	0.0002 ^{ns}	0.013 ^{**}	0.003 ^{**}	0.0153 ^{ns}
L × H	2	0.316 ^{**}	41.41 ^{**}	0.007 ^{ns}	0.0001 ^{ns}	0.0001 ^{ns}	0.0001 ^{ns}	0.003 ^{ns}
خطا Error	10	0.020	2.7	0.005	0.0003	0.0003	0.0002	0.004

ns: به ترتیب بیانگر تفاوت معنی دار در سطح احتمال یک درصد، پنج درصد و عدم تفاوت معنی دار می باشد
**، * and ns: indicate significant difference at the probability level of 1%, 5% and non-significant, respectively.

ادامه جدول ۲- تجزیه واریانس صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی در گیاه نعنا فلفلی تحت تأثیر مکان و زمان برداشت
Table 2- ANOVA of physiological and biochemical traits in peppermint affected by location and harvest time, continued

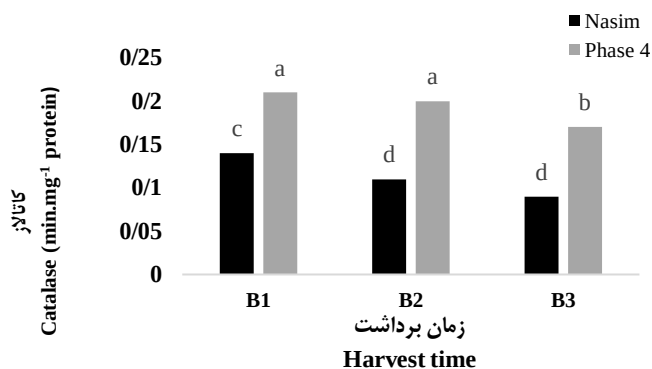
منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	پرولین Proline	فنل Phenol	فلاونوئید Flavonoid	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کاروتنوئید Carotenoid	کلروفیل کل Total chlorophyll
بلوک Block	2	0.000004 ^{ns}	0.261 ^{ns}	0.221 ^{ns}	0.002 ^{ns}	0.0004 ^{ns}	5.99 ^{ns}	0.003 ^{ns}
مکان Location (L)	1	0.0598 ^{**}	68.44 ^{**}	41.40 ^{**}	1.0804 ^{**}	0.1352 ^{**}	0.080 ^{**}	2.85 ^{**}
زمان برداشت Harvest time (H)	2	0.0025 ^{**}	4.46 ^{**}	3.88 ^{**}	0.0760 ^{**}	0.0469 ^{**}	0.005 ^{**}	0.318 ^{**}
مکان × زمان L × H	2	0.0004 ^{**}	3.78 ^{**}	1.62 [*]	0.0004 ^{ns}	0.0003 ^{ns}	0.0015 ^{ns}	0.232 ^{ns}
خطا Error	10	0.0007	3.176	0.26	0.0048	0.0015	0.0005	0.009

ns: به ترتیب بیانگر تفاوت معنی دار در سطح احتمال یک درصد، پنج درصد و عدم تفاوت معنی دار می باشد
**، * and ns: indicate significant difference at the probability level of 1%, 5% and non-significant, respectively.



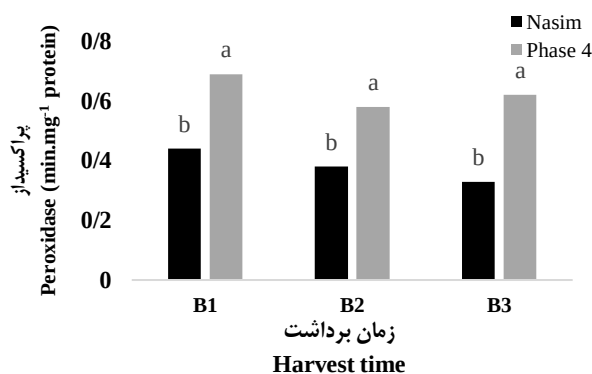
شکل ۱- اثر متقابل مکان (بوستان‌های نسیم و فاز چهار) × زمان برداشت (B1: ۱۵ خرداد، B2: ۱۵ تیر و B3: ۱۵ مرداد) بر فعالیت آنزیم اسکوربات پراکسیداز نعنا فلفلی

Figure 1- The interaction effect of location (Nasim and phase 4 Parks) ×harvest time (B1 June 4, B2 July 5, B3 August 5) on the activity of ascorbate peroxidase enzyme of peppermint (LSD, $P \leq 0.05$)



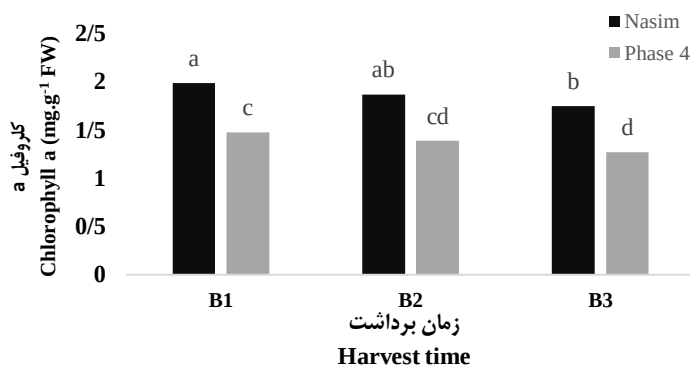
شکل ۲- اثر متقابل مکان (بوستان‌های نسیم و فاز چهار) × زمان برداشت (B1: ۱۵ خرداد، B2: ۱۵ تیر و B3: ۱۵ مرداد) بر فعالیت آنزیم کاتالاز نعنا فلفلی

Figure 2- The interaction effect of location (Nasim and phase 4 Parks) ×harvest time (B1 June 4, B2 July 5, B3 August 5) on the catalase enzyme activity of peppermint (LSD, $P \leq 0.05$)



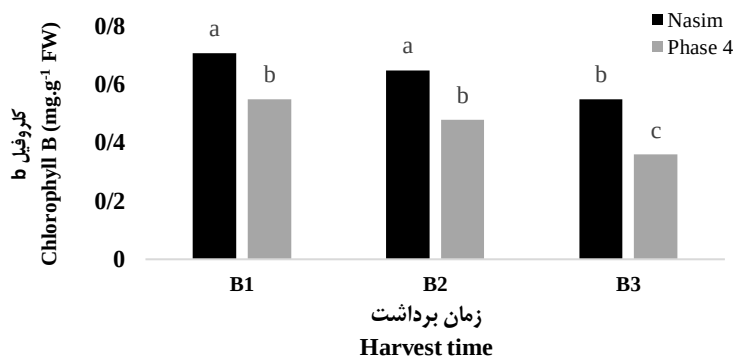
شکل ۳- اثر متقابل مکان (بوستان‌های نسیم و فاز چهار) × زمان برداشت (B1: ۱۵ خرداد، B2: ۱۵ تیر و B3: ۱۵ مرداد) بر فعالیت آنزیم پراکسیداز نعنا فلفلی

Figure 3- The interaction effect of location (Nasim and phase 4 Parks) ×harvest time (B1 June 4, B2 July 5, B3 August 5) on the peroxidase enzyme activity of peppermint (LSD, $P \leq 0.05$)



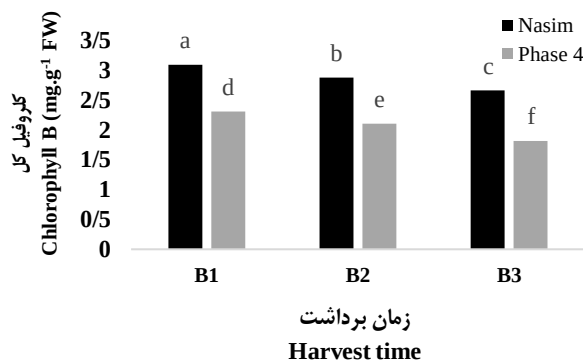
شکل ۴- اثر متقابل مکان (بوستان های نسیم و فاز چهار) × زمان برداشت (B1: ۱۵ خرداد، B2: ۱۵ تیر و B3: ۱۵ مرداد) بر محتوای کلروفیل a نعنا فلفلی

Figure 4- The interaction effect of location (Nasim and phase 4 Parks) ×harvest time (B1 June 4, B2 July 5, B3 August 5) on the chlorophyll a content of peppermint (LSD, P≤0.05)



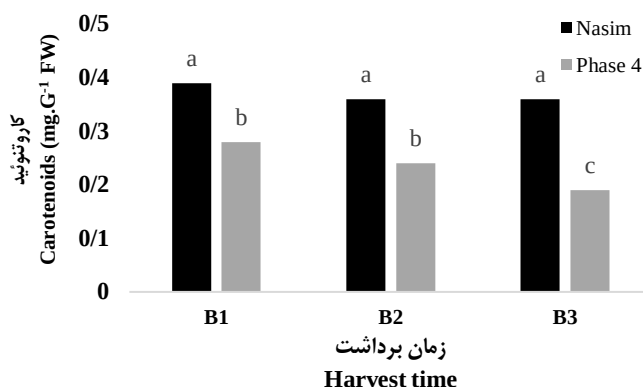
شکل ۵- اثر متقابل مکان (بوستان های نسیم و فاز چهار) × زمان برداشت (B1: ۱۵ خرداد، B2: ۱۵ تیر و B3: ۱۵ مرداد) بر محتوای کلروفیل b نعنا فلفلی

Figure 5- The interaction effect of location (Nasim and phase 4 Parks) ×harvest time (B1 June 4, B2 July 5, B3 August 5) on the chlorophyll b content of peppermint (LSD, P≤0.05)



شکل ۶- اثر متقابل مکان (بوستان های نسیم و فاز چهار) × زمان برداشت (B1: ۱۵ خرداد، B2: ۱۵ تیر و B3: ۱۵ مرداد) بر محتوای کلروفیل کل نعنا فلفلی

Figure 6- The interaction effect of location (Nasim and phase 4 Parks) ×harvest time (B1 June 4, B2 July 5, B3 August 5) on the total chlorophyll of peppermint (LSD, P≤0.05)



شکل ۷- اثر متقابل مکان (بوستان‌های نسیم و فاز چهار) × زمان برداشت (B1: ۱۵ خرداد، B2: ۱۵ تیر و B3: ۱۵ مرداد) بر محتوای کاروتنوئید نعنا فلفلی

Figure 7- The interaction effect of location (Nasim and phase 4 Parks) × harvest level (B1 June 4, B2 July 5, B3 August 5) on carotenoid content of peppermint (LSD, $P \leq 0.05$)

(*al.*, 2022).

صفات بیوشیمیایی

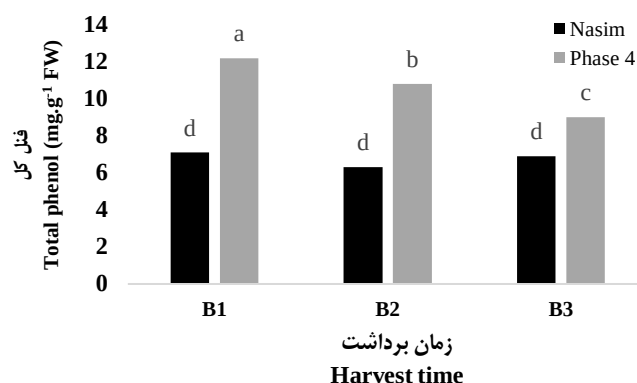
مطابق شکل ۸، بیشترین میزان فنل کل در برهم‌کنش بوستان فاز چهار + برداشت اول (۱۲/۲۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) به‌دست آمد. همچنین در بوستان نسیم برای هر سه برداشت، از نظر میزان فنل تفاوت معنی‌داری نداشتند. باین‌حال، کمترین میزان فنل کل نیز در برهم‌کنش بوستان نسیم + برداشت دوم (۶/۳۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) حاصل شد. ترکیبات فنلی در سیستم دفاعی گیاهان در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی دارای نقش مهمی می‌باشند (Ghasemi Pirbalouti *et al.*, 2014) و قادر به مهار نمودن پراکسیداسیون لیپید بوده و تحت تنش‌های مختلف، انواع مختلف اکسیژن فعال را از بین می‌برند (Zhang *et al.*, 2021). افزایش میزان فنل کل در برداشت اول را می‌توان به بالا بودن دمای هوا در زمان برداشت اول و بنابراین، ایجاد شرایط تنش‌زا در این مرحله مرتبط دانست، درحالی‌که در برداشت‌های بعدی هوا به‌سمت خنک شدن و بنابراین کاهش میزان فنل می‌گردد. نتایج آزمایش فرسرای و مقدم (Farsaraei & Moghaddam, 2020) نیز افزایش میزان فنل کل را در برداشت اول در گیاه ریحان (*Ocimum basilicum* L) نشان داد. در تحقیق کاوسی و بارنده (Kavousi & Barandeh, 2016) مشاهده شد که با افزایش غلظت کادمیوم، میزان فنل کل در عدس افزایش یافت.

مشابه با فنل کل، بیشترین میزان فلاونوئید در برهم‌کنش بوستان فاز چهار + برداشت اول (نه میلی‌گرم بر گرم وزن تر) به‌دست آمد. همچنین در بوستان نسیم برای هر سه برداشت، از نظر میزان فلاونوئید تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. کمترین میزان فلاونوئید نیز در برهم‌کنش بوستان نسیم + برداشت سوم (۴/۲۰ میلی‌گرم بر گرم

کلروفیل جزء مهمی از رنگدانه‌های فتوسنتزی است که محتوای آن در تاج گیاهان، ارتباط نزدیکی با فتوسنتز، میزان عناصر غذایی و بهره‌وری محصول دارد (Mandal & Dutta, 2020). بیشتر بودن میزان کلروفیل و کاروتنوئید در برداشت اول به‌دلیل بهینه بودن شرایط رشدی از قبیل طول روز و تابش آفتاب، دمای محیط و غیره و همچنین زیاد بودن طول دوره رشدی گیاه در برداشت اول نسبت به برداشت دوم است (Amani Machiani *et al.*, 2017). امانی ماحیانی و همکاران (Amani Machiani *et al.*, 2021) نیز بیشتر بودن رنگدانه‌های فتوسنتزی را در برداشت اول در گیاه آویشن باغی نسبت به برداشت دوم گزارش دادند. محتوای کلروفیل به‌عنوان شاخصی از سیستم فتوسنتزی و همچنین استحکام گیاه می‌تواند پاسخ‌هایی را نسبت به کیفیت خاک ارائه دهد. باین‌حال، فلزات سنگین می‌توانند منجر به آسیب سیستم فتوسنتزی شوند (Nigam *et al.*, 2019). محققان در آزمایشی بیان کردند که گیاه نعنا فلفلی پس از سه ماه قرار گرفتن در معرض عناصر آرسنیک، کادمیم، نیکل و سرب اثرات فیتوتوکسیک رخ داد، و به عبارتی، کلروز و ریزش برگ در گیاه صورت گرفت (Dinu *et al.*, 2021). در گیاهان دارویی، فلزات می‌توانند با جذب عناصر پرمصرف توسط گیاه، رقابت کنند، بنابراین منجر به کمبود عناصر مغذی پرمصرف و به دنبال آن کلروز، تغییر رشد و نکروز برگ شوند. کاهش غلظت کلروفیل تحت تنش فلز سنگین، می‌تواند به‌دلیل جایگزینی یون فلز سنگین به‌جای منیزیم (اتم مرکزی کلروفیل) باشد. مشخص شده است که کاروتنوئید نسبت به کلروفیل حساسیت کمتری به فلزات سنگین کمتر دارد و در ترکیب با فلزات سنگین، کمتر تحت تأثیر قرار می‌گیرد. در تحقیقی با هدف بررسی اثرات تخریبی نیترات سرب بر میزان کاروتنوئید در جلبک *انترومورفا* (*Entromorpha intestinalis*) مشاهده شد که محتوای کاروتنوئید با افزایش غلظت نیترات سرب، افزایش می‌یابد (Biyok *et*

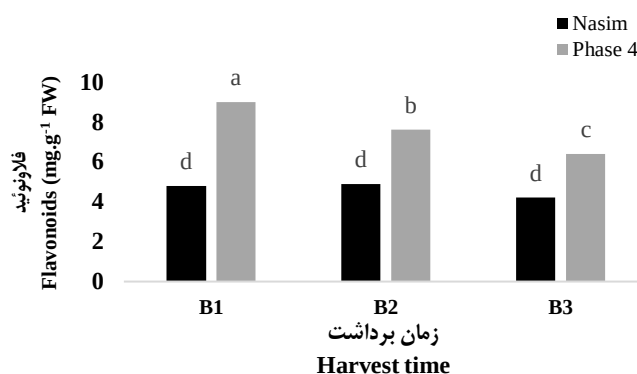
نسبت به تنش فلزات سنگین در گیاهان به عهده دارند (Korkina, 2007). افزایش محتوای فلاونوئید کل در اندام هوایی و ریشه گیاهچه های یونجه (*Medicago sativa* L.) در پاسخ به تنش سرب، نشان دهنده نقش این ترکیب در افزایش تحمل به تنش سرب می-باشد (Ghlich et al., 2015).

وزن تر) حاصل شد (شکل ۹). ال-لیتی و همکاران (EL-Leithy et al., 2017) بیشترین میزان محتوای فلاونوئید کل در گیاه مرزه (*Satureja hortensis* L.) را در برداشت اول گزارش دادند که دلیل آن را شرایط بهتر آب و هوایی در این زمان نسبت به برداشت دوم عنوان کردند. فلاونوئیدها هم به عنوان عوامل آنتی اکسیدان و هم به عنوان ترکیبات کلاته کننده فلزات، نقش مهمی در ایجاد تحمل



شکل ۸- اثر متقابل مکان (بوستان های نسیم و فاز چهار) × زمان برداشت (B1: ۱۵ خرداد، B2: ۱۵ تیر و B3: ۱۵ مرداد) بر محتوای فنل کل نعنا فلفلی

Figure 8- The interaction effect of location (Nasim and phase 4 Parks) × harvest time (B1 June 4, B2 July 5, B3 August 5) on the total phenol content of peppermint (LSD, $P \leq 0.05$)



شکل ۹- اثر متقابل مکان (بوستان های نسیم و فاز چهار) × زمان برداشت (B1: ۱۵ خرداد، B2: ۱۵ تیر و B3: ۱۵ مرداد) بر محتوای فلاونوئید نعنا فلفلی

Figure 9- The interaction effect of location (Nasim and phase 4 Parks) × harvest time (B1 June 4, B2 July 5, B3 August 5) on flavonoid content of peppermint (LSD, $P \leq 0.05$)

لیپیدها جلوگیری می کند و باعث حفظ تمامیت غشاء می شود. بنابراین، در هنگام تنش فلزات سنگین، تولید پرولین افزایش می یابد تا گیاه را در مقابل سمیت حفظ نماید (Liang et al., 2013). پرولین در اندام-های هوایی گیاه تجمع می یابد و هرچه قدر که این اندام ها طول عمر و رشد بیشتری داشته باشند، میزان پرولین افزایش می یابد (Hosseini et al., 2022). با توجه به اینکه هنگام برداشت اول میزان رشد گیاه بیشتر است، بنابراین بیشتر بودن میزان پرولین در

با توجه به شکل ۱۰، بیشترین و کمترین میزان پرولین به ترتیب در برداشت اول + بوستان فاز چهار (۰/۲۱ میلی گرم بر گرم وزن تر) و برداشت سوم + بوستان نسیم (۰/۰۴ میلی گرم بر گرم وزن تر) بود. هرچند در هر دو مکان، برداشت دوم و سوم تفاوت معنی داری با هم نداشتند؛ اما به طور کلی، بیشترین میزان پرولین در برداشت اول به دست آمد. پرولین به عنوان یک محافظ شیمیایی باعث پایداری فرم طبیعی پروتئین ها شده و کلات کننده فلزات است و از پراکسیداسیون

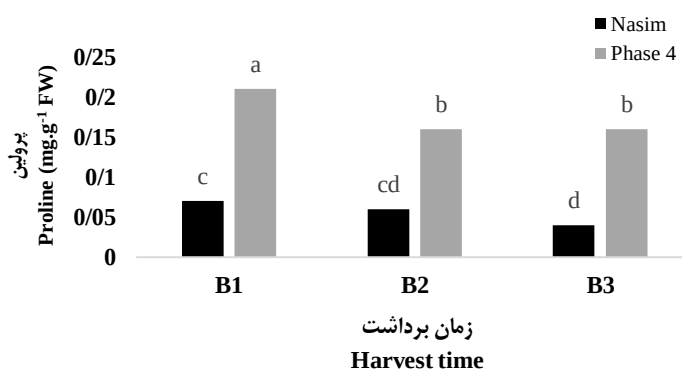
نداشته‌اند، دارای سطح کمتری بوده و درصد اسانس به‌ازای واحد سطح کمتر، عدد بزرگ‌تری نشان داد. بیشتر بودن درصد اسانس در فاز چهار می‌تواند به‌دلیل رشد کمتر برگ‌ها ناشی از وجود عناصر سنگین بیشتر در این منطقه باشد. در واقع، با کاهش سطح برگ در این منطقه به‌ازای واحد سطح کمتر، درصد اسانس بیشتری حاصل شد.

نتایج نشان داد که بوستان نسیم و فاز چهار از نظر عملکرد اسانس تفاوت معنی‌داری نشان ندادند. بیشترین و کمترین عملکرد اسانس به‌ترتیب در فاز چهار + برداشت دوم و سوم (۰/۱۶ گرم) و بوستان نسیم + برداشت اول (۰/۱۳ گرم) به‌دست آمد (شکل ۱۲). به‌علت اینکه عملکرد اسانس تابع عملکرد ماده خشک گیاه می‌باشد (Czepak, 1998)، با کاهش عملکرد در مناطقی که دارای آلودگی زیادی هستند، میزان عملکرد اسانس نیز می‌تواند کاهش یابد. ترپنوئیدهای سنتز شده در غده‌های اپیدرمی گیاه نعنا فلفلی مصرف‌کننده کربنی می‌باشند که از طریق فتوسنتز تأمین می‌شود (Croteau & Johnson, 1984). در نتیجه، سنتز اسانس در غده‌های اپیدرمی تابع تأمین مداوم کربن فتوسنتزی است و اختلال در تغذیه کربن توسط عناصر سنگین می‌تواند باعث کاهش مقدار اسانس شود (Srivastava & Luthra, 1994). محققان گزارش دادند که سرب (۵۰-۵ میلی‌گرم در لیتر) می‌تواند باعث علائم قابل مشاهده سمیت شود که باعث آسیب به ساختارهای سلولی، تجمع گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و تغییر ترکیب اسانس‌ها شود (Hu et al., 2007). در مقابل، بیان شد زمانی که نعنا در معرض سرب و کروم قرار می‌گیرد، می‌تواند عملکرد اسانس و زیست‌توده خود را بهبود بخشد (Kumar et al., 2009).

برداشت اول قابل انتظار است. از طرفی، به‌دلیل اینکه در برداشت اول دمای هوا بیشتر از سایر برداشت‌ها است و گیاه در این شرایط، تنش بیشتری را احساس می‌کند و بعد از آن هوا به‌سمت خنک شدن پیش می‌رود، افزایش میزان پرولین در این برداشت توجیه‌پذیر است. نتایج به‌دست آمده در این تحقیق با نتایج زید و همکاران (Zaid et al., 2020) در نعنا (*Mentha arvensis* L.) و عظیمی چتایی و همکاران (Azimychetabi et al., 2021) در نعنا فلفلی و همچنین کاووسی و بارنده (Kavousi & Barandeh, 2016) در عدس مطابقت داشت.

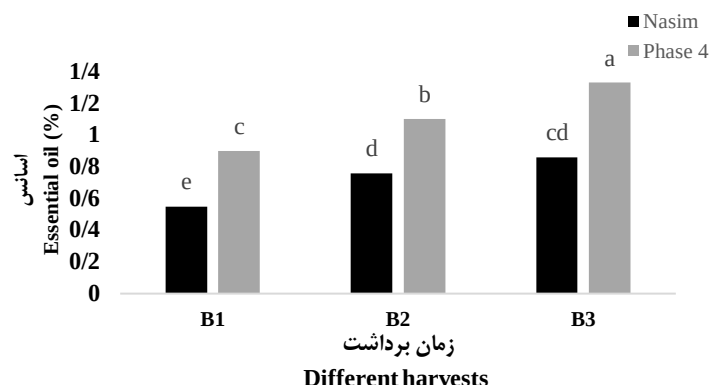
درصد و عملکرد اسانس

درصد اسانس در برداشت سوم برای هر دو مکان دارای بیشترین میزان بود. به‌طور کلی، بیشترین درصد اسانس در برهم‌کنش بوستان فاز چهار + برداشت سوم (۱/۳۳ درصد) به‌دست آمد. کمترین درصد اسانس نیز در برهم‌کنش بوستان نسیم و برداشت اول (۰/۵۵ درصد) حاصل شد (شکل ۱۱). زمان برداشت در گیاهان دارویی به‌عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل مدیریتی، نقش بسیار ارزنده‌ای در افزایش کمیت و کیفیت تولید مواد مؤثره گیاهان دارویی دارد (Khakpour et al., 2020). به‌طور کلی، میزان اسانس نعنا فلفلی تحت تأثیر عوامل محیطی مانند نور، دما، روشنایی و عوامل زراعی مانند تیمارهای خاکی، مواد غذایی و یا عناصر کم‌مصرف قرار می‌گیرد (Zheljazkov et al., 2006). نعنا فلفلی یک گیاه روزبند است و طبق نظر محققان طی روزهای گرم و بلند به‌دلیل رشد و فتوسنتز بیشتر، حداکثر میزان اسانس را تولید می‌کند (Zeinali et al., 2014). همچنین بیشترین میزان اسانس این گیاه در برگ‌ها تولید می‌شود و میزان تولید اسانس در این گیاه به‌شدت به عملکرد برگ بستگی دارد. به نظر می‌رسد که در برداشت سوم، برگ‌های گیاه به‌دلیل اینکه فرصت کافی برای رشد



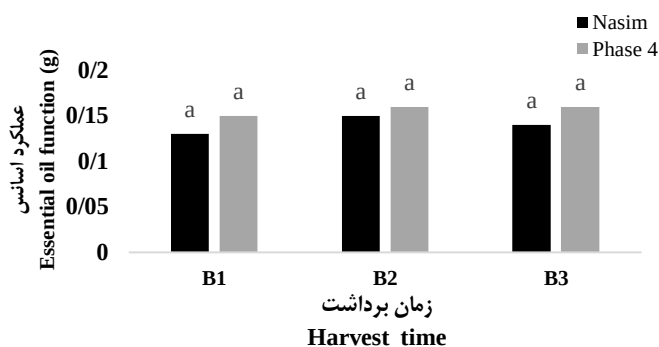
شکل ۱۰- اثر متقابل مکان (بوستان‌های نسیم و فاز چهار) × زمان برداشت (B1: ۱۵ خرداد، B2: ۱۵ تیر و B3: ۱۵ مرداد) بر محتوای پرولین نعنا فلفلی

Figure 10- The interaction effect of location (Nasim and phase 4 Parks) × harvest time (B1 June 4, B2 July 5, B3 August 5) on proline content of peppermint (LSD, $P \leq 0.05$)



شکل ۱۱- اثر متقابل مکان (بوستان های نسیم و فاز چهار) × زمان برداشت (B1: ۱۵ خرداد، B2: ۱۵ تیر و B3: ۱۵ مرداد) بر درصد اسانس نعنا فلفلی

Figure 11- The interaction effect of location (Nasim and phase 4 Parks) ×harvest time (B1 June 4, B2 July 5, B3 August 5) on essential oil percentage of peppermint (LSD, $P \leq 0.05$)



شکل ۱۲- اثر متقابل مکان (بوستان های نسیم و فاز چهار) × زمان برداشت (B1: ۱۵ خرداد، B2: ۱۵ تیر و B3: ۱۵ مرداد) بر عملکرد اسانس نعنا فلفلی

Figure 12- The interaction effect of location (Nasim and phase 4 Parks) ×harvest time (B1 June 4, B2 July 5, B3 August 5) on the essential oil yield of peppermint (LSD, $P \leq 0.05$)

غلظت سرب و کادمیوم در گیاه

در خصوص مقادیر فلزات سنگین، نتایج نشان داد که عنصر سرب در برداشت اول برای هر دو مکان، دارای بیشترین میزان بود. همچنین در زمان برداشت، بیشترین میزان کادمیوم در بوستان فاز چهار گزارش شد، هرچند در برداشت دوم و سوم تفاوت معنی داری مشاهده نشد. به طور کلی، بیشترین میزان سرب در برهم کنش بوستان فاز چهار + برداشت اول (۵۵/۹ میلی گرم بر کیلوگرم) و کمترین میزان نیز در برهم کنش بوستان نسیم + برداشت سوم (۱۱/۷ میلی گرم بر کیلوگرم) ثبت شد (شکل ۱۳).

در مطالعه ای مشاهده شد که غلظت سرب در اندام های هوایی *Erigeron annuus* قبل از برداشت بیشتر از زمان برداشت آن ها بود و با افزایش دفعات برداشت از میزان این عنصر در اندام های هوایی گیاه کاسته شد (Pliszko et al., 2020). دلیل آن را می توان عدم وجود زمان کافی احیای گیاه و جذب بیشتر عناصر دانست. از طرفی،

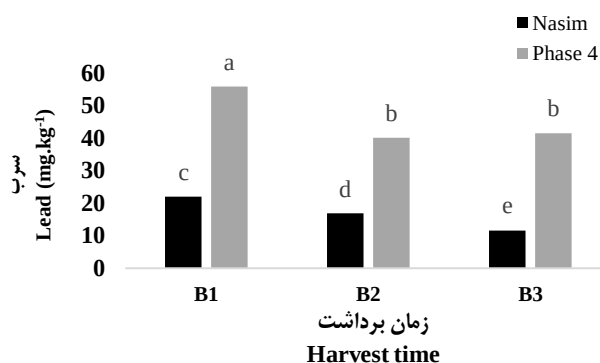
با توجه به اینکه در برداشت اول، میزان رشد گیاه بیشتر از سایر برداشت ها است، میزان جذب سرب نیز بیشتر صورت می گیرد. محققان بیان کردند که غلظت فلزات سنگین در گیاهان دارویی به محیط رشد و همچنین نوع گونه گیاهی بستگی دارد (Maleki et al., 2017). از این رو، بیشتر بودن میزان آلودگی در فاز چهار، افزایش میزان سرب در گیاهان این منطقه را توجیه می کند. در بررسی دیگری، محققان گزارش دادند که کاربرد آب های آلوده به عناصر سنگین منجر به افزایش مقدار فلزات سنگین کادمیوم و سرب در خاک گردید و با افزایش این عناصر در خاک، جذب آن ها توسط رازیانه (*Foeniculum vulgare*) افزایش یافت (Merrikhpour & Izadifar, 2016).

در خصوص عنصر کادمیوم نیز نتایج مشابه با سرب به دست آمد، به طوری که بیشترین میزان کادمیوم در برهم کنش بوستان فاز چهار + برداشت اول (۱/۰۶ میلی گرم بر کیلوگرم) و کمترین میزان در

برهم کنش بوستان نسیم + برداشت سوم (0.2 میلی گرم بر کیلوگرم) حاصل شد (شکل ۱۴). به نظر می رسد که در برداشت اول با رشد بیشتر گیاه، تجمع کادمیوم در گیاه افزایش می یابد. اوآنسیا و همکاران (Oancea et al., 2005) گزارش نمودند که با افزایش غلظت فلزات سنگین در محیط کشت بر غلظت آن ها در گیاه افزوده می شود. حضور کادمیم منجر به کاهش سرعت رشد، تبخیر و تعرق و جذب یون توسط گیاه شده و با کاهش جذب آب و غلظت سایر یون ها، مانع از انجام فعالیت ریشه می گردد (Rizwan et al., 2016; Naeem et al., 2016). گزارش شده است که با افزایش وزن خشک گیاه، غلظت کادمیوم در بافت های گیاهی خرفه (*Portulaca eoleracea*) افزایش یافت (Fallah et al., 2016). با توجه به آلودگی بیشتر فاز چهار نسبت به سایر مناطق، تجمع بیشتر فلزات سنگین در بافت های گیاهی در این منطقه قابل انتظار است. همچنین در گزارش دیگری مشاهده شد که با افزایش غلظت کادمیوم، میزان تجمع این فلز در اندام هوایی گیاهان یونجه به میزان چشمگیری افزایش یافت (Aghaei et al., 2021).

نتیجه گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که زمان برداشت در مناطق مختلف با درجه آلودگی متفاوت، بر خصوصیات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی گیاه معنا تأثیر داشت، به صورتی که در بوستان کلانتری فاز چهار با



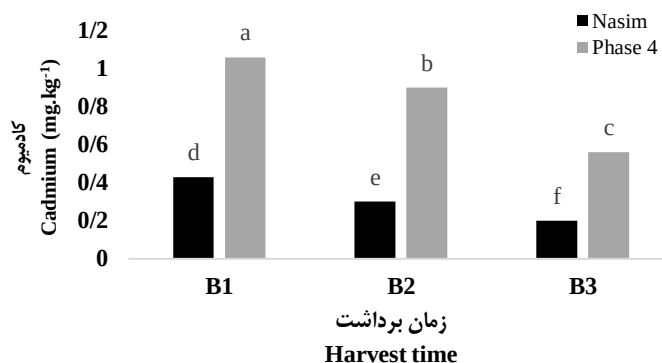
شکل ۱۳- اثر متقابل مکان (بوستان های نسیم و فاز چهار) × زمان برداشت (B1: ۱۵ خرداد، B2: ۱۵ تیر و B3: ۱۵ مرداد) بر غلظت سرب نعنا فلفلی

Figure 13- The interaction effect of location (Nasim and phase 4 Parks) × harvest time (B1 June 4, B2 July 5, B3 August 5) on the concentration of Lead of peppermint (LSD, $P \leq 0.05$)

میزان بیشتر آلودگی به سرب و کادمیوم نسبت به بوستان نسیم، اکثر صفات ناشی از تنش فلزات سنگین مانند آنزیم های آنتی اکسیدانی، محتویات فنلی و همچنین درصد اسانس، مقادیر بالاتری نشان دادند. از طرف دیگر، در بوستان نسیم نیز به دلیل اثرات کمتر تنش فلزات سنگین، میزان محتویات کلروفیلی بیشتری دیده شد. در مورد میزان سرب و کادمیوم جذب شده توسط گیاه، این مقدار در بوستان کلانتری فاز چهار از بوستان نسیم بیشتر بود، که خود باعث کاهش خصوصیات رشدی گیاه نعنا فلفلی شد. همچنین در برداشت اول به دلیل قدرت بالاتر گیاهچه و خصوصیات رشدی بهتر، جذب فلزات سنگین بیشتری ثبت شد، در حالی که در برداشت سوم، به دلیل صرف انرژی بیشتر برای رشد مجدد، دارای خصوصیات رشدی کمتر و جذب ضعیف تر فلزات سرب و کادمیوم بود. در مورد مصرف خوراکی محصول تولیدی نیز با توجه به اینکه میزان غلظت سرب و کادمیوم تجمع یافته در برگ های نعنا فلفلی در هر دو مکان بیشتر از استاندارد بهداشت جهانی WHO (سرب 10 میلی گرم بر کیلوگرم) و کادمیوم 0.3 میلی گرم بر کیلوگرم) بود، مصرف آن توصیه نمی شود.

سپاسگزاری

این پژوهش با حمایت دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی و شهرداری منطقه نه مشهد انجام شد. بدین وسیله از حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد سپاسگزاری می گردد.



شکل ۱۴- اثر متقابل مکان (بوستان های نسیم و فاز چهار) × زمان برداشت (B1: ۱۵ خرداد، B2: ۱۵ تیر و B3: ۱۵ مرداد) بر غلظت کادمیوم نعنا فلفلی

Figure 14- The interaction effect of location (Nasim and phase 4 Parks) ×harvest time (B1 June 4, B2 July 5, B3 August 5) on the concentration of Cadmium of peppermint (LSD, $P \leq 0.05$)

References

- 1- Aghaei, K., Bouryaei, M., & Zamani, A. (2021). Study of cadmium contamination and its effects on some physiological and nutritional characteristics of alfalfa plants. *Environmental Sciences*, 18(4), 109-124. (In Persian). <https://doi.org/10.52547/envs.18.4.109>
- 2- Amani Machiani, M., Javanmard, A., Ostadi, A., & Morshedloo, M.R. (2021). Evaluation of Essential Oil Yield and Ecological Indices in the Intercropping of thyme (*Thymus vulgaris* L.) and soybean (*Glycine max* L.) with Application of Arbuscular Mycorrhizal Fungus. *Sustainable Agriculture and Production science*, 31(3), 32-50. (In Persian). <https://doi.org/10.22034/saps.2021.13687>
- 3- Amani Machiani, M., Javanmard, A., Nasiri, Y., & Morshedloo, M. (2017). Advantage of peppermint (*Mentha piperita* L.) and faba bean (*Vicia faba* L.) intercropping in different cropping patterns. *Sustainable Agriculture and Production science*, 27(3), 45-62. <https://doaj.org/article/3a4de7de93124f1ba4125671d446ace3>
- 4- Antisari, L.V., Orsini, F., Marchetti, L., Vianello, G., & Gianquinto, G. (2015). Heavy metal accumulation in vegetables grown in urban gardens. *Agronomy for Sustainable Development*, 35, 1139-1147. <https://doi.org/10.1007/s13593-015-0308-z>
- 5- Arnon, D.I., (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts polyphenoloxidase in: (*Beta vulgaris*). *Journal of Plant Physiology*, 24, 1-15. <https://doi.org/10.1104/pp.24.1.1>
- 6- Azimychetabi, Z., Sabokdast Nodehi, M., Moghadam, T., & Motesarezadeh, B. (2021). Cadmium stress alters the essential oil composition and the expression of genes involved in their synthesis in peppermint (*Mentha piperita* L.). *Industrial Crops and Products*, 168(15), 113602. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113602>
- 7- Bates, L.S., Waldran, R.P., & Teare, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water studies. *Plant Soil*, 39, 205-208. <https://doi.org/10.1007/BF00018060>
- 8- Biyok, B., Soltani, S., & Hashemi, A.S. (2022). Investigation of heavy metal (Pb^{+}) effect in presence of (Ca^{2+}) on photosynthetic pigments and antioxidant enzymes activity of *Entromorpha* sp. *Journal of Plant Environmental Physiology*, 68(4), 55-68. (in Persian). <https://doi.org/10.30495/iper.2022.688799>
- 9- Çatav, Ş.S., Genç, T.O., Oktay, M.K., & Küçükakyüz, K. (2020). Cadmium toxicity in wheat: Impacts on element contents, antioxidant enzyme activities, oxidative stress, and genotoxicity. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 104, 71-77. <https://doi.org/10.1007/s00128-019-02745-4>
- 10- Croteau, R., & Johnson, M.A. (1984). Biosynthesis of terpenoids in glandular trichomes. *Chemistry of Plant Trichomes*, 133-185. https://doi.org/10.1007/978-1-4899-5355-1_7
- 11- 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. <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2748>
- 12- Czepak, M.P. (1998). Produção de óleo bruto e mentol cristal-izável em oito frequências de colheita da menta (*Menta ar-vensis* L.). *Science Botucatu*, 53-80. <https://doi.org/10.11606/D.11.1995.ide-20231122-100730>
- 13- De Pinto, M.C., & De Gara, L. (2004). Changes in the ascorbate metabolism of apoplastic and symplastic spaces are associated with cell differentiation. *Journal of Experimental Botany*, 55(408), 2559-2569. <https://doi.org/10.1093/jxb/erh253>
- 14- Dinu, C., Gheorghe, S., Tenea, A.G., Stoica, C., Vasile, G.G., Popescu, R.L., Serban, E.A., & Pascu, L.F. (2021). Toxic metals (As, Cd, Ni, Pb) impact in the most common medicinal plant (*Mentha piperita*). *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18, 3904. <https://doi.org/10.3390/ijerph18083904>

- 15- Dumont, S., & Rivoal, J. (2019). Consequences of oxidative stress on plant glycolytic and respiratory metabolism. *Frontiers in Plant Science*, 10, 166. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00166>
- 16- Gallego, S.M. & Benavides, M.P. (2019). Cadmium-induced oxidative and nitrosative stress in plants. *Cadmium Toxicity and Tolerance in Plants*, 233–274. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814864-8.00010-3>
- 17- Ebrahimpour, M., & Mushrifah I. (2008). Heavy metal concentrations (Cd, Cu and Pb) in five aquatic plant species in Tasik Chini, Malaysia. *Journal of Environmental Geology*, 54, 689–698. <https://doi.org/10.1007/s00254-007-0838-z>
- 18- EL-Leithy, A.S., EL-Hanafy, S.H., Khattab, M.E., Ahmed, S.S., & Ghafour, A. (2017). Effect of nitrogen fertilization rates, plant spacing and their interaction on essential oil percentage and total flavonoid content of summer savory (*Satureja hortensis* L.) plant. *Egyptian Journal of Chemistry*, 5(5), 805-816. <https://doi.org/10.21608/ejchem.2017.1296.1074>
- 19- Fallah, F., Soltaninejad, M., & Taddayon, R. (2016). Effects of cattle manure, chemical fertilizers, and their combination on cadmium accumulation and growth of purslane (*Portulaca eoleracea*). *Soil Research (Soil and Water Sciences)*, 30(4), 1-14. (In Persian). <https://doi.org/10.22092/ijsr.2017.109259>
- 20- Farsaraei, S., & Moghaddam, M. (2020). Morphophysiological and biochemical response of basil cultivar Keshkeni luvluo under salinity stress and superabsorbent polymers application. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)*, 33(4), 982- 996. (In Persian). <https://dor.isc.ac/dor/20.1001.1.23832592.1399.33.4.19.5>
- 21- Gupta, A., Sharma, S., & Verma, N. (2019). Oxidative stress and antioxidant responses in peppermint plants exposed to heavy metals. *Plant Physiology and Biochemistry*, 25(2), 123-136.
- 22- Giviand Rad, M., Sadeghi, T., Larejani, K., & Hosseini, S. (2011). Determination of heavy metals of cadmium and lead in green straw cultivated in different lands of southern Tehran. *Food Science and Nutrition*, 8(2), 38-42. <http://dx.doi.org/10.29252/arakmu.10.5.23>
- 23- Ghasemi Pirbalouti, A., Samani, M.R., Hashemi, M., & Zeinali, H. (2014). Salicylic acid affects growth, essential oil and chemical compositions of thyme (*Thymus daenensis* Celak.) under reduced irrigation. *Plant Growth Regulation*, 72(3), 289-301. <https://doi.org/10.1007/s10725-013-9860-1>
- 24- 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>
- 25- Ghlich, S., Zarrin Kamar, F., & Niknam, V. (2015). Lead accumulation and it's effects on peroxidase activity, phenolic and flavonoid compounds in seedlings of *Medicago sativa* L. *Journal of Plant Research (Iran biology)*, 28(1), 164-174. (In Persian). <https://dor.isc.ac/dor/20.1001.1.23832592.1394.28.1.15.0>
- 26- Hosseinifard, M., Stefaniak, S., Ghorbani Javid, M., Soltani, E., Wojtyla, L., & Garnczarska, M. (2022). Contribution of exogenous proline to abiotic stresses tolerance in plants: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, 23, 5186. <https://doi.org/10.3390/ijms23095186>
- 27- He, Z., Shentu, J., Yang, X., Baligar, V.C., Zhang, T.Q., & Stoffella, P.J. (2015). Heavy Metal Contamination of soils: Sources, indicators and assessment. *Journal of Environmental Indicators*, 9, 17-18.
- 28- Heidary Monfared, S. (2011). Community garden heavy metal contamination study. *Environment Canada, Ecology Action Centre*, 4–20.
- 29- Hu, J.Z., Shi, G.X., Xu, Q.S., Wang, X., Yuan, Q.H., & Du, K.H. (2007). Effects of Pb²⁺ on the active oxygen-scavenging enzyme activities and ultrastructure in *Potamogeton crispus* leaves. *Russian Journal of Plant Physiology*, 54, 414–419. <https://doi.org/10.1134/S1021443707030181>
- 30- Irfan, M., Ahmad, A., & Hayat, S. (2014). Effect of cadmium on the growth and antioxidant enzymes in two varieties of *Brassica juncea*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 21(2), 125-131. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2013.08.001>
- 31- Kavousi, H.R., & Barandeh, F. (2016). Effect of cadmium on photosynthetic pigments, proline and soluble proteins in lentil (*Lens culinaris* Medik.) seedlings. *Plant Process and Function*, 5(16), 117-132. (In Persian). <http://dorl.net/dor/20.1001.1.23222727.1395.5.16.9.4>
- 32- Khakpour, A., Zolfaghari, M., & Sorkheh, K. (2020). A study on some secondary metabolites of *Glycyrrhiza glabra* L. in autumn and spring conditions in Khuzestan province. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 35(6), 991-1000. (In Persian). <https://doi.org/10.22092/ijmapr.2020.125165.2496>
- 33- Kumar, N.J.I., Soni, H., Kumar, R.N., & Bhatt, I. (2009). Hyperaccumulation and mobility of heavy metals in vegetable crops in India. *Journal of Agriculture and Environment*, 10, 34–45.
- 34- Korkina, L.G. (2007). Phenylpropanoids as naturally occurring antioxidants: From plant defense to human health. *Cellular and Molecular Biology*, 53, 15-25. <http://dx.doi.org/10.3126/aej.v10i0.2128>
- 35- La Greca, P., La Rosa, D., Martinico, F., & Privitera, R. (2011). Agricultural and green infrastructures: The role of non-urbanised areas for ecosustainable planning in a metropolitan region. *Environmental Pollution*, 159, 2193–2202. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2010.11.017>

- 36- Leake, J., Adam-Bradford, A., & Rigby, J. (2009). Health benefits of 'grow your own' food in urban areas: implications for contaminated land risk assessment and risk management? *Environmental Health*, 8, S6. <https://doi.org/10.1186/1476-069X-8-S1-S6>
- 37- Liang, X., Zhang, L., Natarajan, S.K., & Becker, D.F. (2013). Proline mechanisms of stress survival. *Antioxid. Redox Signal*, 19, 998–1011. <https://doi.org/10.1089/ars.2012.5074>
- 38- Mandal, R., & Dutta, G. (2020). From photosynthesis to biosensing: Chlorophyll proves to be a versatile molecule. *Sensors International*, 1, 100058. <https://doi.org/10.1016/j.sintl.2020.100058>
- 39- Maleki, M., Ghorbanpour, M., & Kariman, K. (2017). Physiological and antioxidative responses of medicinal plants exposed to heavy metals stress. *Plant Gene*, 11, 247-254. <https://doi.org/10.1016/j.plgene.2017.04.006>
- 40- Merrikhpour, H., & Izadifar, S. (2016). *Investigating the concentration of heavy elements in fennel plant under irrigation with water contaminated with lead and cadmium*. National Conference of Aromatic Medicinal Plants and Spices, 1-5. (In Persian)
- 41- Mishra, B., Sangwan, R.S., Mishra, S., Jadaun, J.S., Sabir, F., & Sangwan, N.S. (2014). Effect of cadmium stress on inductive enzymatic and nonenzymatic responses of ROS and sugar metabolism in multiple shoot cultures of Ashwagandha (*Withania somnifera* Dunal). *Protoplasma*, 251(5), 1031-1045. <https://doi.org/10.1007/s00709-014-0613-4>
- 42- Montañó López, F., & Biswas, A. (2021). Are heavy metals in urban garden soils linked to vulnerable populations? A case study from Guelph, Canada. *Scientific Reports*, 11, 11286. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-90368-3>
- 43- McKay, D.L., & Bumberg, J.B. (2006). A review of the bioactivity and potential health benefits of peppermint tea (*Mentha piperita* L.). *Phytotherapy Research*, 20, 619-633. <https://doi.org/10.1002/ptr.1936>
- 44- Naeem, A., Saifullah, Rehman, M.Z., Akhtar, T., Yong, S.O., & Rengel, Z. (2016). Genetic variation in cadmium accumulation and tolerance among wheat cultivars at the seedling stage. *Communications in Soil Science and Plant*, 47(5), 554-562. <https://doi.org/10.1080/00103624.2016.1141918>
- 45- Nigam, N., Khare, P., Yadav, V., Mishra, D., Jain, S., Karak, T., Panja, S., & Tandon, S. (2019). Biochar-mediated sequestration of Pb and Cd leads to enhanced productivity in *Mentha arvensis*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 172, 411-422. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.02.006>
- 46- Oancea, S., Foca, N., & Airinei, A. (2005). Effects of heavy metals on plant growth and photosynthetic activity. *Analele Stiintifice ale Universitatii AL. I. CUZA I IASI*, 107–110.
- 47- Osman, K.T. (2018). Polluted Soils. In: *Management of Soil Problems*. Springer, Cham. 333- 408. https://doi.org/10.1007/978-3-319-75527-4_12
- 48- Pahlavan Rad, M., Keykha, G., Dahmardeh, K. & Moghaddam, A. (2009). *The effect of using different sources of green manure in rotation with wheat on soil properties and wheat yield*. 11th Soil Science Congress of Iran, 11, 934-936. (In Persian)
- 49- Pliszko, A., Klimek, B., & Kostrakiewicz-Gieralt, K. (2020). Effect of shoot cutting on trace metal concentration in leaves and capitula of potential phytoaccumulator, invasive *Erigeron annuus* (Asteraceae). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 104, 668–672. <https://doi.org/10.1007/s00128-020-02844-7>
- 50- Rajput, V.D., Harish, Singh, R.K., Verma, K.K., Sharma, L., Quiroz-Figueroa, F.R., Meena, M., Gour, V.S., Minkina, T., Sushkova, S., & Mandzhieva, S. (2021). Recent developments in enzymatic antioxidant defence mechanism in plants with special reference to abiotic stress. *Biology*, 10, 267. <https://doi.org/10.3390/biology10040267>
- 51- Rizwan, M., Meunier, J.D., Davidian, J.C., Pokrovsky, O.S., Bovet, N., & Keller, C. (2016) Silicon alleviates Cd stress of wheat seedlings (*Triticum turgidum* L. cv. Claudio) grown in hydroponics. *Environmental Science and Pollution Research International*, 23, 1414–1427. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-5351-4>
- 52- Sarwar, N., Saifullah, Malhi, S.S., Zia, M.H., Naeem, A., Bibi, S., & Farid, G. (2010). Role of plant nutrients in minimizing cadmium accumulation by plant. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90, 925-937. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3916>
- 53- Sarwar, N., Imran, M., Shaheen, M.R., Ishaque, W., Kamran, M.A., Matloob, A., Rehim, A., & Hussain, S. (2017). Phytoremediation strategies for soils contaminated with heavy metals: Modifications and future perspectives. *Chemosphere*, 710-721. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.12.116>
- 54- Srinivas, N.D., Rashmi, K.R. & Raghavarao. K.S.M.S. (1999). Extraction and purification of a plant peroxidase by aqueous two-phase extraction coupled with gel filtration. *Process Biochemistry*, 35, 43–48. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(99\)00030-8](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(99)00030-8)
- 55- Srivastava, N.K., & Luthra, R. (1994). Relationship between photosynthetic carbon metabolism and essential oil biogenesis in peppermint under Mn stress. *Journal of Experimental Botany*, 45, 1127-1132. <https://doi.org/10.1093/jxb/45.8.1127>
- 56- Singleton, U.L., & Rossi, J. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagent. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144–158. <https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144>

- 57- Singleton, V.L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152–178. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
- 58- United Nations. (2018). Department of Economic and Social Affairs, P. D. World Urbanization Prospects: Te 2018 Revision. *World Urbanization Prospects*, the 2018 Revision. <https://www.un.org/en/desa/2018-revision-world-urbanization-prospects>
- 59- Velikova, V., Yordanov, I., & Edreva, A. (2000). Oxidative stress and some antioxidant systems in acid raintreated bean plants. Protective role of exogenous polyamines. *Plant Science*, 151, 59-66. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(99\)00197-1](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(99)00197-1)
- 60- Yamaguchi, K., Mori, H., & Nishimura, M. (1995). A novel isoenzyme of ascorbate peroxidase localized on glyoxysomal leaf peroxisomal membranes in pumpkin. *Plant Cell Physiology*, 36, 1157–1162. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a078862>
- 61- Zaid, A., Mohammad, F., & Fariduddin, Q. (2020). Plant growth regulators improve growth, photosynthesis, mineral nutrient and antioxidant system under cadmium stress in menthol mint (*Mentha arvensis* L.). *Physiology and Molecular Biology of Plants: An International Journal of Functional Plant Biology*, 26, 25–39. <https://doi.org/10.1007/s12298-019-00715-y>
- 62- Zeinali, H., Hosseini, H., & Shirzadi, M.H. (2014). Effects of nitrogen fertilizer and harvest time on agronomy, essential oil and menthol of *Mentha piperita* L. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 30(3), 486-495. (In Persian). <https://doi.org/10.22092/ijmapr.2014.7684>
- 63- Zhang, H., Troise, A.D., Qi, Y., Wu, G., Zhang, H., & Fogliano, V. (2021). Insoluble dietary fibre scavenges reactive carbonyl species under simulated physiological conditions: The key role of fibre-bound polyphenols. *Food Chemistry*, 349, 129018. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129018>
- 64- Zheljazkov, V.D., Craker, L.E., & Xing, B. (2006). Effects of Cd, Pb, and Cu on growth and essential oil contents in dill, peppermint and basil. *Environmental and Experimental Botany*, 58, 9–16. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2005.06.008>
- 65- Zhao, H., Guan, J., Liang, Q., Zhang, X., Hu, H., & Zhang, J. (2021). Effects of cadmium stress on growth and physiological characteristics of sassafra seedlings. *Scientific Reports*, 11(1), 9913. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-89322-0>

Research Article

Vol. 38, No. 4, Winter 2024, p. 693-704

The Effect of Foliar Application of Seaweed Extract on Morphological and Physiological Traits of *Echium amoenum* Fisch. & Mey Seedlings under Salinity Stress

B. Rahimkhani¹, M. Naseri^{2*}, A. Ahmadian², M. Alipanah³

1, 2 and 3-M.Sc. Graduate, Assistant Professor and Associate Professor, Department of Plant Production, Faculty of Agriculture, University of Torbat Heydarieh, Torbat Heydarieh, Iran, respectively

(* - Corresponding Author Email: m.naseri@torbath.ac.ir)

Received: 16-06-2024
Revised: 30-06-2024
Accepted: 07-07-2024
Available Online: 07-07-2024

How to cite this article:

Rahimkhani B., Naseri, M., Ahmadian, A., & Alipanah, M. (2024). The effect of foliar application of Seaweed extract on morphological and physiological traits of *Echium amoenum* Fisch. & Mey seedlings under salinity stress. *Journal of Horticultural Science*, 38(4), 693-704. (In Persian with English abstract).
<https://doi.org/10.22067/jhs.2024.88537.1353>

Introduction

Historically, medicinal plants have been one of the most important resources for therapeutic purposes, and even today, their use is expanding in many developed countries. Salinity stress is a major factor that limits plant growth by reducing metabolic and physiological activities. One of the effects of salinity stress is the increased production of abscisic acid in plants. In recent years, the use of seaweed and its extracts has been tested as a method to mitigate the effects of salinity stress on plants. According to the studies conducted in some plants, seaweed extract can cause the growth and expansion of the roots and help to increase the absorption of water and minerals through the roots. Also, based on the research conducted on some plants, the use of seaweed increases the amount of chlorophyll in the plant and accelerates the time of flowering and fruit formation in the plant. *Echium amoenum* is a perennial plant belonging to the family Borage is a valuable plant in terms of its medicinal properties is considered. In general environmental factors have a significant effect on flower production in these plants. Therefore, for the successful cultivation of medicinal plants, including in general environmental factors have a significant effect on flower production in these plants. Therefore, for the successful cultivation of medicinal plants, including *Echium amoenum*, providing optimal environmental conditions is a priority, providing optimal environmental conditions is a priority. *Ascophyllum nodosum* seaweed extract contains significant amounts of high-use mineral elements such as nitrogen, potassium, calcium, magnesium, and low-use mineral elements such as iron, copper, and manganese. Therefore, according to the current results, in this study, the effect of foliar spraying of algae extract was investigated. The morphological characteristics of *Echium amoenum* seedling under salt stress were investigated

Materials and Methods

In order to investigate the effects of foliar spraying of seaweed extract on borage flower seedlings under salinity stress conditions, a factorial experiment was conducted with two factors of seaweed and salinity stress with sodium chloride salt, in the form of a completely randomized design in the greenhouse. The seeds were purchased from Pakan Seed Company of Isfahan and soaked in normal water for 24 hours, and then they were transferred into small pots containing three parts of peat moss and one part of perlite. One week after transferring the seedlings to the main pots, foliar spraying with seaweed extract was done. Foliar-spraying was repeated once every two weeks and in total the seedlings were sprayed three times with seaweed extract. In this experiment, a concentration of 1500 ppm of seaweed extract and three levels of salinity (EC=1.6, 4, 8) were used. The seaweed extract used in this experiment belonged to Akadin Company. The type of seaweed from which the extract was prepared was *Ascophyllum nodosum* and it is a type of brown algae. One week after the first foliar application of seaweed extracts, the application of salinity stress began. In order to prevent shock in plants, salinity treatment was done gradually and in three stages. In order to prevent salt accumulation, washing with ordinary water was done once every two weeks.



©2024 The author(s). This is an open access article distributed under [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

<https://doi.org/10.22067/jhs.2024.88537.1353>

Results and Discussion

The results showed that the use of seaweed extract can significantly protect plant growth under salinity stress. Seaweed extract increased the amount of proline and potassium in the leaves of the plant and thereby reduced the harmful effects of salinity stress on the borage plant. In addition, foliar spraying of borage plant with the use of seaweed extract increased the amount of chlorophyll in the plant, and in this way, by increasing the amount of photosynthesis in the plant; it helped the plant to grow better under salt stress conditions. The results of this research indicate that the use of seaweed extract helps plants maintain their health under salt stress by increasing proline levels and enhancing potassium absorption in plant tissues. Additionally, foliar spraying with seaweed extract preserves the chlorophyll structure in plants experiencing salinity stress, thereby increasing photosynthetic efficiency and promoting better growth under such conditions.

Conclusions

Based on the results obtained, it can be concluded that seaweed can mitigate the negative effects of salinity stress in Iranian borage seedlings. Furthermore, due to its low cost and availability, it can serve as a suitable bio-fertilizer to support plant growth in saline conditions.

Keywords: Carotenoids, Electrolyte leakage, Sodium

مقاله پژوهشی

جلد ۳۸، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۳، ص. ۶۹۳-۷۰۴

اثر محلول پاشی عصاره جلبک دریایی بر صفات مورفوفیزیولوژیک نشاء گل گاوزبان ایرانی (*Echium amoenum* Fisch. & Mey) در شرایط تنش شوری

بهروز رحیم خانی^۱ - محبوبه ناصری^{۲*} - احمد احمدیان^۲ - مسعود علی پناه^۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۳/۲۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۴/۱۷

چکیده

به منظور بررسی اثرات محلول پاشی عصاره جلبک دریایی روی نشاهای گل گاوزبان (*Echium amoenum* Fisch. & Mey) در شرایط تنش شوری، آزمایشی به صورت فاکتوریل با دو فاکتور جلبک دریایی و تنش شوری با نمک کلرید سدیم، در قالب طرح کاملاً تصادفی در گلخانه انجام شد. در این آزمایش، تیمارها شامل غلظت ۱۵۰۰ ppm از عصاره جلبک دریایی و سه سطح شوری (۱/۶، ۴ و ۸ میلی موس بر متر) بود. یک هفته بعد از اولین محلول پاشی عصاره های جلبک دریایی، اعمال تنش شوری آغاز گردید. به منظور جلوگیری از ایجاد شوک در گیاهان، تیمار شوری به تدریج و در سه مرحله انجام شد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات ساده تیمارهای شوری و جلبک دریایی و همچنین اثرات متقابل شوری در جلبک دریایی بر وزن تر اندام هوایی، وزن تر ریشه، طول ریشه و وزن خشک کل بوته گل گاوزبان معنی دار بود. عصاره جلبک دریایی سبب افزایش میزان پرولین و پتاسیم در برگ گیاه گردید و از این طریق سبب کاهش اثرات مخرب تنش شوری برای گیاه گل گاوزبان شد. علاوه بر این محلول پاشی گیاه گل گاوزبان با استفاده از عصاره جلبک دریایی سبب افزایش میزان کلروفیل در گیاه گردید و از این طریق با افزایش میزان فتوسنتز در گیاه به رشد بهتر گیاه در شرایط تنش شوری کمک کرد. استفاده از عصاره جلبک سبب افزایش میزان قند محلول تحت شرایط تنش شوری گردید. به طوری که در غلظت های ۱/۶، ۴ و ۸ میلی موس بر متر تنش شوری، میزان قند محلول به ترتیب ۸۰، ۳۳ و ۳۳ درصد افزایش یافت. استفاده از عصاره جلبک دریایی سبب کاهش ۱۱ و ۱۵ درصدی میزان سدیم در غلظت های ۴ و ۸ شوری شد. همچنین جلبک دریایی، جذب پتاسیم را ۳۳ و ۲۴ درصد در غلظت ها شوری افزایش داد. با توجه به نتایج به دست آمده می توان نتیجه گرفت که کاربرد جلبک دریایی می تواند اثرات منفی تنش شوری را در نشاء گل گاوزبان ایرانی کاهش دهد، همچنین به دلیل قیمت پایین و در دسترس بودن می تواند به عنوان یک کود زیستی مناسب برای حفظ رشد گیاه در شرایط تنش شوری استفاده گردد.

واژه های کلیدی: سدیم، کاروتنوئید، نشت الکترولیت

مقدمه

بسیاری از گونه های گیاهان دارویی است. به همین دلیل، این کشور از نظر طبیعی و جغرافیایی دارای استعدادهای زیادی جهت تولید، مصرف و صادرات گیاهان دارویی است (Nikbakht & Kafi, 2024). خانواده گل گاوزبان^۲ یکی از تیره های گیاهی با ۱۳۱ سرده و ۲۰۰ گونه است. برخی از گیاهان این خانواده یک ساله و برخی چندساله هستند. یکی از

از گذشته، گیاهان دارویی به عنوان یکی از مهم ترین منابع برای مصارف دارویی مورد استفاده قرار می گرفته اند. اکنون نیز در بسیاری از کشورهای پیشرفته، مصرف گیاهان دارویی رو به گسترش است (Ramandi et al., 2022). کشور ایران به طور طبیعی رویشگاه

۱، ۲ و ۳- به ترتیب کارشناسی ارشد، استادیار و دانشیار، گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربت حیدریه، تربت حیدریه، ایران
(Email: m.naseri@torbath.ac.ir) * - نویسنده مسئول:

مهم‌ترین گیاهان دارویی در این خانواده گل‌گاوزبان ایرانی با نام علمی *Echium amoenum* Fisch. & Mey است. این گیاه علفی و دارای اندام پوشیده از تارهای نرم است. گل‌های آن به رنگ آبی مایل به بنفش آن در یک طرف گل‌آذین گرزنی ساده و بلند ظاهر می‌گردد. در طب سنتی ایران، گل‌های گل‌گاوزبان توسط مردم جهت رفع عوارض سرماخوردگی و به‌عنوان آرام‌بخش مورد استفاده قرار می‌گرفته است (Nikbakht & Kafi, 2024; Jabbar et al., 2022).

تنش شوری یکی از مهم‌ترین عوامل تأثیرگذار در کاهش رشد گیاه است. تنش شوری با کم کردن فعالیت‌های متابولیکی و فیزیولوژیکی در گیاه باعث محدود شدن رشد گیاه می‌گردد (Zhao et al., 2020). یکی از پیامدهای تنش شوری در گیاه تولید اسیدآبسیزیک در گیاه است، اسید آبسزیک باعث بسته شدن روزنه‌های تنفسی در گیاه شده و در نتیجه، فتوسنتز کاهش خواهد یافت. مطالعات نشان می‌دهد که تنش شوری باعث زیاد شدن انواع اکسیژن فعال در اندام‌های گیاه می‌گردد، اکسیژن‌های فعال مولکول‌های ناپایداری هستند که با پروتئین‌ها و چربی‌های موجود در غشاء سلولی واکنش می‌دهند و باعث آسیب رسیدن به ساختار غشاء سلولی می‌گردند (Zhao et al., 2020; Shabala et al., 2014). کودهای زیستی به مجموعه مواد نگهدارنده با تعداد زیادی از ریزجانداران مفید گفته می‌شود که به‌منظور تأمین عناصر غذایی مورد نیاز گیاه و ایجاد شرایط فیزیکی و شیمیایی مناسب خاک مورد استفاده قرار می‌گیرند. یکی از این کودها، جلبک دریایی است. عصاره جلبک قهوه‌ای دریایی حاوی مقادیر مختلفی از متابولیت‌های ثانویه فعال زیستی، ویتامین‌ها، پیش‌سازهای ویتامین‌ها و آمینواسیدها هستند. همچنین عصاره جلبک دریایی شامل تعدادی از فیتوهورمون‌ها مانند اکسین، سیتوکینین، جیبرلین، اسید آبسزیک و براسینواستروئید است (Mutale-Joan et al., 2021). جلبک دریایی منجر به رشد و گسترش ریشه‌ها، افزایش عمر پس از برداشت محصولات و افزایش مقاومت گیاهان در برابر تنش‌های زنده و غیر زنده می‌شود. بر طبق تحقیقات انجام شده در برخی از گیاهان، عصاره جلبک دریایی می‌تواند باعث رشد و گسترش ریشه شده و به افزایش جذب آب و مواد معدنی از طریق ریشه کمک می‌کند. در بررسی تأثیر عصاره جلبک دریایی بر رشد ریشه‌های گیاهچه‌های سویا مشخص شد که عصاره جلبک دریایی در سطوح مختلف تأثیر مثبتی روی طول ریشه‌های گیاهچه سویا داشت. بالاترین اثر تحریکی عصاره جلبک دریایی در غلظت ۵-۱۰ گرم در میلی‌لیتر مشاهده شد که طول ریشه حدود ۱۸ درصد بلندتر از ریشه‌های شاهد بود (Anisimov & Chaikina, 2014). همچنین براساس تحقیقات انجام شده روی برخی از گیاهان، کاربرد جلبک دریایی باعث افزایش مقدار کلروفیل در گیاه شده و زمان گل‌دهی و تشکیل میوه در گیاه را تسریع می‌نماید (Punitha et al., 2024; Latigue et al., 2013). براساس برخی از آزمایش‌ها، کاربرد عصاره جلبک دریایی باعث

افزایش جذب عناصر غذایی توسط گیاه شد (Alharbi et al., 2022; Mutale-Joan et al., 2021). بر پایه نتایج تحقیقات انجام شده، عصاره جلبک دریایی بر صفات تعداد دانه پر، تعداد دانه در طبق، کلروفیل، درصد روغن و عملکرد دانه آفتابگردان معنی‌دار بود (Seyeed Razavi et al., 2018).

در واقع، جلبک قهوه‌ای به‌عنوان یک ترکیب محافظ مهم در پاسخ به تنش‌های غیر زیستی محسوب می‌شود، زیرا عصاره جلبک دریایی دارای مقادیر زیادی ترکیبات فعال زیستی از جمله بتائین، پرولین و اسیدهای آمینه معطر است. نتایج بررسی کاربرد عصاره جلبک دریایی بر گیاه اسفناج (*Spinacia oleracea* L.) در شرایط تنش خشکی نشان داد که این ماده با بهبود روابط آبی و کاهش محدودیت باز شدن روزنه‌ای گیاه سبب بهبود رشد اسفناج در شرایط تنش خشکی شد. عصاره جلبک دریایی به دلیل داشتن هورمون‌های رشد مانند اکسین و سیتوکینین، عناصری مانند آهن، روی، مس، کبالت، منگنز و ویتامین‌ها و اسیدهای آمینه اثر مفیدی بر رشد گیاهان و ایجاد مقاومت در برابر تنش‌های غیر زیستی مانند شوری، خشکی و دما دارد (Esmailpour & Fatemi, 2020). در پژوهشی که اثر عصاره جلبک دریایی بر شاخص‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی ریحان در شرایط تنش کم‌آبی انجام شد، نتایج نشان داد که با افزایش شدت تنش خشکی، صفات مورفولوژیک کاهش یافت و کاربرد عصاره جلبک دریایی، با افزایش میزان پرولین، ایجاد تنظیم اسمزی، کاهش تجزیه کلروفیل و کاهش نشت غشاء، سبب بهبود رشد ریحان در شرایط تنش خشکی شد (Esmailpour & Fatemi, 2020).

سیاری زهان و همکاران (Sayyari Zahan et al., 2022) تأثیر دو نوع جلبک بر خصوصیات رشدی گندم و ریحان در شرایط تنش شوری را بررسی کردند. در بررسی نوع جلبک بر صفات مورد ارزیابی شامل وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه دو گیاه در شرایط آزمایشگاه و همچنین ارتفاع بوته، وزن خشک بوته و نشت الکترولیت دو گیاه در بخش گلخانه‌ای، گزارش دادند که در بخش آزمایشگاهی کاربرد جلبک کلرولا، وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه گندم را به ترتیب ۳۶/۶۷ درصد و ۱۸/۳۸ درصد نسبت به شاهد افزایش داد و کاربرد جلبک کلرولا ۴۲/۸۶ درصد و ۵۹/۲۶ درصد وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه ریحان و جلبک اسپرولینا به ترتیب ۶۴/۲۹ درصد و ۲۸/۱۵ درصد وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه ریحان را نسبت به شاهد (عدم کاربرد جلبک) کاهش دادند.

استفاده از کودهای زیستی مانند عصاره جلبک دریایی که باعث افزایش مقاومت گیاه و جلوگیری از کاهش رشد گیاهان دارویی در شرایط تنش شوری می‌شود، می‌تواند به‌عنوان راهکار مناسب برای بهبود عملکرد گیاهان دارویی در شرایط تنش شوری باشد. هدف از انجام این آزمایش، بررسی تأثیر عصاره جلبک دریایی بر صفات

محاسبه گردید. در نهایت، میانگین سطح برگ‌ها براساس واحد سانتی مترمربع به عنوان سطح برگ بوته ثبت گردید. طول ریشه‌ها با استفاده از خط کش با دقت یک میلی متر و همچنین وزن تر خشک گیاه با استفاده از ترازو با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم ثبت گردید.

اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ (RWC)

به منظور اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ، یکی از برگ‌های میانی هر بوته پس از جدا شدن از ساقه وزن شد (وزن تازه) و همان برگ به منظور اندازه‌گیری وزن آماس به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر در دمای چهار درجه سانتی گراد قرار گرفت و سپس وزن شد (وزن آماس)، سپس برگ‌های مزبور به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۰ درجه سلسیوس در آون قرار گرفته و وزن شدند (وزن خشک). در نهایت، با کاربرد معادله‌های زیر، محتوای نسبی آب برگ براساس درصد محاسبه گردید (Nourashrafeddin et al., 2023).

(۱)

$$RWC = \frac{(\text{وزن خشک} - \text{وزن اشباع})}{(\text{وزن خشک} - \text{وزن تر})} \times 100$$

میزان کلروفیل و کاروتنوئید برگ

مقدار ۰/۵ گرم از ماده تر گیاهی (از برگ‌های کامل و بالایی بوته) در هاون چینی ریخته و سپس با استفاده از نیتروژن مایع تخریب شد. ۲۰ میلی لیتر استون ۸۰ درصد به نمونه اضافه شد، سپس در دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد. عصاره فوقانی جدا و به بالن شیشه‌ای منتقل شد. مقداری از نمونه داخل بالن به داخل کوت ریخته شد و سپس مقدار جذب محلول با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر به طور جداگانه در طول موج‌های ۶۶۳ نانومتر برای کلروفیل a، ۶۴۵ نانومتر برای کلروفیل b و ۴۷۰ نانومتر برای کاروتنوئیدها قرائت و ثبت گردید. با استفاده از معادله‌های زیر مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی در نمونه‌ها محاسبه گردید: (Pan et al., 2024)

(۲)

$$\begin{aligned} \text{Chl a } (\mu\text{g/ml}) &= (15/65 \times A_{666}) - (7/34 \times A_{653}) \\ \text{Chl b } (\mu\text{g/ml}) &= (27/05 \times A_{653}) - (11/21 \times A_{666}) \\ \text{Carotenoid } (\mu\text{g/ml}) &= (1000 \times A_{470}) - (2/860 \times \text{Chl a}) - (129/2 \times \text{Chl b}) / 245 \end{aligned}$$

سنجش میزان پرولین

میزان پرولین با روش بیتس و همکاران (Bates et al., 1973) اندازه‌گیری شد. ۰/۵ گرم بافت خشک برگ به همراه ۱۰ میلی لیتر اسید سولفوسالسیلیک سه درصد کوبیده شده و از کاغذ صافی عبور داده شدند. به دو میلی لیتر از این محلول، دو میلی لیتر اسیداستیک گلاسیال و دو میلی لیتر اسید ناین هیدرین اضافه و به مدت یک ساعت در حمام بن‌ماری در دمای ۱۰۰ درجه قرار داده شدند. چهار میلی لیتر

مورفوفیزیولوژیکی گیاه دارویی گل گاوزبان ایرانی در شرایط تنش شوری است.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثرات محلول پاشی عصاره جلبک دریایی روی نشاهای گل گاوزبان در شرایط تنش شوری، آزمایشی به صورت فاکتوریل $3 \times 2 \times 2$ با دو فاکتور جلبک دریایی و تنش شوری با نمک کلرید سدیم، در قالب طرح کامل تصادفی در گلخانه انجام شد.

فاکتور اول: تیمار عصاره جلبک دریایی (آکادین) در دو سطح (صفر و ۱۵۰۰ ppm)

فاکتور دوم: تنش شوری در سه سطح (۱/۶، ۴ و ۸ میلی موس بر متر)

کشت بذر و تهیه نشاء

بذر از شرکت پاکان بذر اصفهان خریداری شده و به مدت ۲۴ ساعت در آب معمولی خیسانده شدند (Ramandi et al., 2019)، سپس به درون گلدان‌های کوچک حاوی سه قسمت پیت‌ماس و یک قسمت پرلیت انتقال یافتند. بعد از ظاهر شدن سومین برگ حقیقی، نشاءها به گلدان‌های بزرگ‌تر حاوی ماسه، خاک باغچه، پرلیت و ورمی کمپوست (۲:۲:۲:۱) منتقل شدند.

محلول پاشی با عصاره جلبک دریایی

یک هفته بعد از انتقال نشاءها به گلدان‌های اصلی، محلول پاشی با عصاره جلبک دریایی انجام شد. محلول پاشی هر دو هفته یکبار تکرار شد و در مجموع، نشاءها سه مرتبه با عصاره جلبک دریایی محلول پاشی شدند. عصاره جلبک دریایی که در این آزمایش مورد استفاده قرار گرفت، متعلق به شرکت آکادین بود. نوع جلبک دریایی که عصاره از آن تهیه شده، *آسکوفیلوم نودوزوم Ascophyllum nodosum* L. از انواع جلبک‌های قهوه‌ای بود.

اعمال تنش شوری

یک هفته بعد از اولین محلول پاشی عصاره‌های جلبک دریایی، اعمال تنش شوری آغاز گردید. به منظور جلوگیری از ایجاد شوک در گیاهان، تیمار شوری به تدریج و در سه مرحله انجام شد. به منظور جلوگیری از تجمع نمک، هر دو هفته یکبار آبشویی با آب معمولی انجام گرفت.

اندازه‌گیری صفات ریخت‌شناختی گیاه گل گاوزبان

برای اندازه‌گیری سطح برگ، کلیه برگ‌های نشاء چیده شدند و سپس سطح هر یک از برگ‌ها به وسیله دستگاه سنجش سطح برگ

نتایج و بحث

تأثیر محلول‌پاشی جلبک دریایی بر پارامترهای رشدی گیاه گل‌گاوزبان در شرایط تنش شوری

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات ساده تیمارهای شوری و جلبک دریایی و همچنین اثرات متقابل شوری در جلبک دریایی بر وزن تر اندام هوایی، وزن تر ریشه، طول ریشه و وزن خشک کل بوته گل‌گاوزبان معنی‌دار بود (جدول ۱). بررسی اثر متقابل شوری و جلبک دریایی تمامی صفات رشدی نشان داد که در هر سه تیمار آبیاری، کاربرد جلبک دریایی باعث افزایش وزن تر اندام هوایی، وزن تر ریشه، طول ریشه و وزن خشک کل بوته گردید (شکل ۱). به‌طوری‌که این افزایش در سطح شوری ۸ میلی‌موس بر متر تنش شوری به‌ترتیب ۱۰ درصد، ۵ درصد، ۲۵ درصد و ۳۳ درصد نسبت به تیمار عدم محلول‌پاشی با جلبک بود (شکل ۱).

شوری با تأثیر بر رشد رویشی و زایشی گیاه موجب کاهش عملکرد می‌شود. محققان علت کاهش رشد گیاه را کاهش فتوسنتز جاری در اثر کاهش بخش فتوسنتز کننده دانستند. باتوجه به اینکه گیاهان بخش عمده‌ای از دوره رشد خود را در معرض شوری گذراندند، احتمالاً میزان یون‌های سمی سدیم و کلر در برگ‌ها با افزایش شوری افزایش یافته و سبب کاهش رشد در گیاه شده است. در شرایط شوری، استفاده از جلبک دریایی از طریق جلوگیری از ورود نمک به گیاه و افزایش میزان پتاسیم، آثار منفی تنش شوری را کاهش داده (شکل ۴) و همچنین با افزایش میزان کلروفیل (شکل ۲) و به‌تبع آن افزایش فتوسنتز در شرایط شوری، به‌طور مستقیم و غیرمستقیم از طریق افزایش مقاومت گیاه به شوری باعث شرایط مطلوب‌تری برای رشدنمو گیاه شدند که این امر افزایش رشد رویشی گیاه را به دنبال داشت.

محققین نشان دادند که هنگام تنش شوری گیاهان با تجمع پتاسیم در خود در مقابل این تنش از خود واکنش نشان می‌دهند (Ramandi & Seifi, 2023; Shabala & Kein, 2008) علاوه‌براین، استفاده از عصاره جلبک دریایی یک روش کارآمد برای رشد بهتر گیاهان بوده است (Punitha et al., 2024; Latigue et al., 2013). عصاره جلبک دریایی حاوی میزان زیادی پروتئین و اسیدآمینو می‌باشد و گزارش شده است که اسیدهای آمینو به‌صورت مستقیم و غیرمستقیم بر فعالیت‌های فیزیولوژیک و رشدنمو گیاه مؤثر واقع می‌شوند (Faten et al., 2010). براساس نتایج می‌توان بیان نمود که به‌دلیل وجود اسیدهای آمینو در عصاره جلبک دریایی، با کاربرد آن به‌خاطر اثرات تغذیه‌ای مثبت بر رشدنمو، عملکرد رشدی گیاه افزایش خواهد یافت. اسیدهای آمینو به‌عنوان منبعی از نیتروژن یک ترکیب اساسی در تولید پروتئین گیاهی و کلروفیل است (Al-Said & Kamal, 2008).

تولون به نمونه اضافه گشت. در نهایت، میزان نور جذبی در ۵۲۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید. میزان پرولین استخراجی براساس میکرومول بر گرم وزن تر مشخص گردید.

سنجش میزان قندمحلول در میوه

برای سنجش قند محلول در برگ گل‌گاوزبان ابتدا ۰/۱ گرم نمونه گیاهی را در داخل پنج میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد له کرده، سپس به آن ۱۵ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد اضافه گردید. محلول را به‌مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۵۰۰ دور در دقیقه در دستگاه سانتریفیوژ قرار داده تا فیلتراسیون گردد. سپس از محلول بالایی صاف شده مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر به سه میلی‌لیتر محلول آنترون اضافه گردید. محلول فوق را در حمام آب جوش به‌مدت ۱۰ دقیقه قرار داده، سپس عدد جذب آن در دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج ۶۲۵ نانومتر خوانده شد. برای منحنی استاندارد، از گلوکز خالص با سه غلظت ۱۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام استفاده گردید. سپس با کمک منحنی استاندارد، میزان قند بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک به‌دست آمد (Gurrieri et al., 2020; Courbier et al., 2020).

غلظت سدیم و پتاسیم

به یک گرم نمونه ۱۰ میلی‌لیتر از اسید کلریدریک دو نرمال اضافه گردید. بعد نمونه‌ها داخل بالن ۱۰۰ میلی‌لیتر صاف و با مقطر به حجم رسانیده شد. غلظت یون‌های Na^+ و K^+ نمونه‌ها با استفاده از دستگاه فلیم فتومتر ۴۲۵ شعله (X) اندازه‌گیری شد (Asch et al., 2022).

اندازه‌گیری نشت الکتروولیت در گیاه

به‌منظور تعیین درصد نشت الکتروولیت، ابتدا جوان‌ترین برگ‌های کاملاً توسعه یافته از هر بوته جدا شد و در ویال‌های حاوی ۵۰ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر شده قرار گرفت. ارلن‌ها به‌مدت شش ساعت روی شیکر قرار گرفت و سپس هدایت الکتریکی هر نمونه با استفاده از دستگاه EC متر (Jenvay) اندازه‌گیری گردید (Savage et al., 2024).

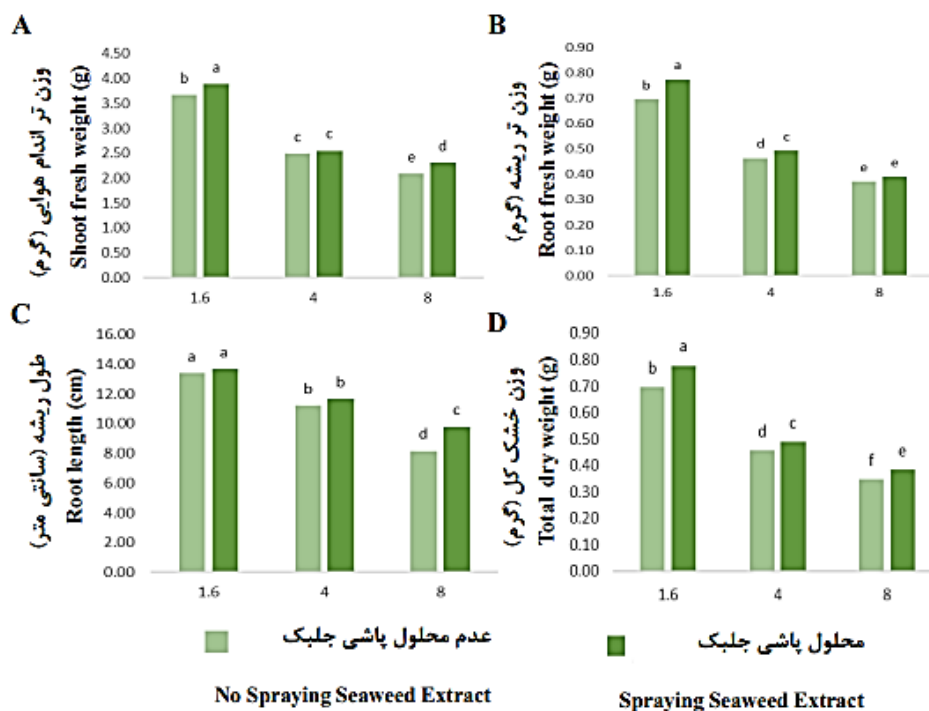
تجزیه و تحلیل آماری

داده‌ها در نهایت توسط نرم‌افزار SAS بر پایه تجزیه واریانس و میانگین‌ها براساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد مقایسه شدند. سپس نمودارها توسط نرم‌افزار Excel ترسیم شدند.

استفاده از عصاره جلبک دریایی باعث بهبود رشد نشاء گل گاوزبان در شرایط تنش شوری شد که این موضوع را می توان به افزایش توان گیاه برای مقابله با تنش شوری از طریق افزایش رشد ریشه، افزایش میزان فتوسنتز جذب بیشتر عناصر غذایی مانند فسفر، پتاسیم و همچنین هورمون های گیاهی مانند اکسین، سیتوکینین و اسیدآبسیزیک نسبت داد.

جدول ۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثرات تنش شوری و جلبک دریایی بر صفات مورفولوژیک گل گاوزبان
Table 1- ANOVA (mean square) for the effects of salinity stress and Seaweed extract on the morphological traits of *E. amoenum*

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	وزن تر اندام هوایی Fresh weight of shoot	وزن خشک اندام هوایی Dry weight of shoot	وزن تر ریشه Fresh weight of roots	طول ریشه Root length	وزن خشک گیاه Plant dry weight
Salinity شوری	2	16.74**	0.79**	0.81**	125.74**	0.87**
Seaweed جلبک دریایی	1	0.52**	0.03**	0.031**	10.76*	0.045**
Seaweed× salinity شوری × جلبک دریایی	2	0.058*	0.006*	0.006*	3.29*	0.004*
خطا Error	30	0.017	0.001	0.001	1.01	0.001
ضریب تغییرات CV (%)		4.8	8.7	6.84	8.86	7.2



شکل ۱- تأثیر محلول پاشی با عصاره جلبک بر پارامترهای فیزیولوژیکی گیاه گل گاوزبان تحت تنش شوری
Figure 1- The effect of foliar spraying of Seaweed Extract on the physiological parameters of *E. amoenum* under salt stress (DMRT, $P \leq 0.05$)

شوری و جلبک دریایی و همچنین اثرات متقابل شوری در جلبک دریایی بر پرولین، قند محلول و نشت الکترولیت در گل گاوزبان معنی دار بود (جدول ۲). میزان پرولین در گیاه به عنوان یکی از

تأثیر محلول پاشی جلبک دریایی بر پارامترهای فیزیولوژیکی گیاه گل گاوزبان در شرایط تنش شوری نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثرات ساده تیمارهای

شاخصه‌های اصلی در حفظ شرایط گیاه در تنش شوری به حساب می‌آید. با اعمال تنش شوری، میزان پرولین نسبت به شاهد یا عدم تنش شوری افزایش یافت، بیش‌ترین مقدار پرولین در تیمار شوری هشت به‌دست آمد. استفاده از عصاره جلبک سبب افزایش میزان پرولین در گیاه گردید (شکل ۲) و در تحقیق حاضر از این طریق به بهبود رشد گیاه در شرایط تنش کمک کرد (شکل ۱). پرولین اسید آمینه آزاد محسوب می‌شود که در شرایط تنش‌های مختلف محیطی به‌منظور تنظیم اسمزی در سلول‌های گیاهان تولید و تجمع می‌یابد. نتایج پژوهشگران نشان داد که محلول‌پاشی عصاره جلبک دریایی موجب کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و پراکسیداز و افزایش تجمع پرولین در شرایط آبیاری کامل و همچنین قطع آبیاری شد (Zarbakhsh et al., 2023).

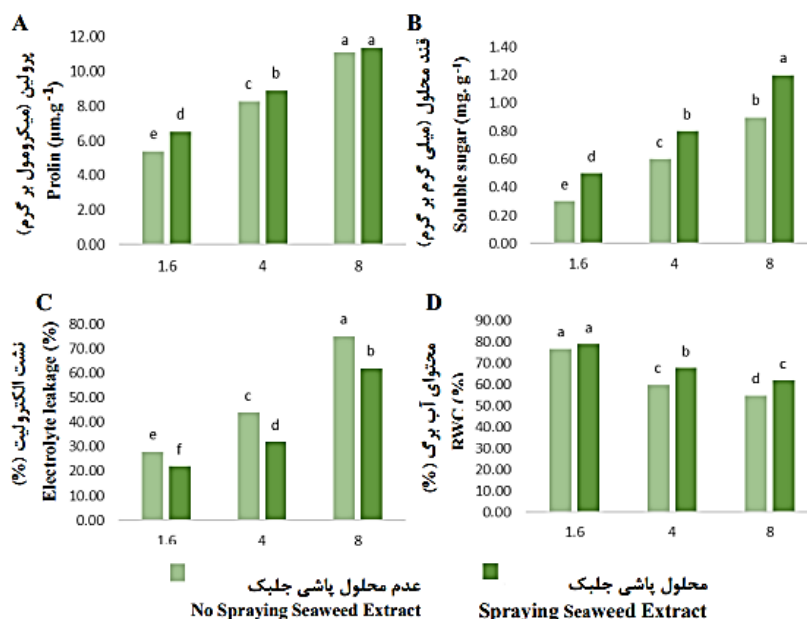
استفاده از عصاره جلبک سبب افزایش میزان قند محلول تحت شرایط تنش شوری گردید، به‌طوری‌که در غلظت‌های ۱/۶، ۴ و ۸ تنش شوری، میزان قند محلول به‌ترتیب ۸۰ درصد، ۳۳ درصد و ۳۳ درصد افزایش یافت (شکل ۲). قندهای محلول در شرایط تنش افزایش می‌یابند که این کربوهیدرات‌ها به‌عنوان حفاظت‌کننده اسمزی و همچنین در تعدیل اسمزی و ذخایر کربنی نقش دارد (Afzal et al., 2021; Rosa et al., 2009). بنابراین، به نظر می‌رسد که محلول‌پاشی با عصاره جلبک دریایی در شرایط تنش شوری، باعث افزایش فعالیت آنزیم ATP ase غشاء یاخته‌ای، سهولت ورود ساکاروز به آوند آبکش و افزایش بارگیری ساکاروز در آوند آبکشی شده و در نتیجه میزان قند ساخته شده در برگ گیاه را در جهت رویارویی با تنش شوری، افزایش می‌دهد (Zarbakhsh et al., 2023). علاوه‌براین، در این آزمایش میزان کلروفیل تحت تیمار جلبک دریایی افزایش یافته است، احتمالاً افزایش ظرفیت فتوسنتزی باعث افزایش مقدار قندهای محلول شده

است. تنش شوری موجب کاهش محتوای نسبی آب برگ شد، بیش‌ترین محتوای نسبی آب برگ به‌میزان ۷۶ درصد مربوط به تیمار شاهد و کاربرد عصاره جلبک دریایی بود و کمترین محتوای نسبی آب برگ به‌میزان ۵۲ درصد در تیمار شوری ۸ به‌دست آمد (شکل ۲). محتوای نسبی آب برگ در همه تیمارهای شوری با کاربرد عصاره جلبک دریایی افزایش یافت. کاهش در محتوای نسبی آب برگ سبب کاهش آب مورد نیاز برای فرآیندهای مورفولوژیک و فیزیولوژیک از قبیل طویل‌شدن سلولی، باز شدن روزنه‌ها و فرآیندهای وابسته به فتوسنتز می‌شود. سایر محققان نیز بیان کردند که کاربرد عصاره جلبک باعث افزایش رشد گیاه، تحریک رشد ریشه و جذب آب بیشتر و افزایش محتوای نسبی آب برگ‌ها می‌شود (Razavi et al., 2018). با افزایش تنش شوری، میزان نشت الکترولیت از غشاءهای یاخته‌ای گل‌گاوزبان افزایش یافت و بیش‌ترین مقدار آن (۷۵/۲ درصد) در گیاهان در سطح تنش شوری ۸ و کمترین میزان نشت (۲۱ درصد) در گیاهان محلول‌پاشی شده عصاره جلبک در سطح شوری ۱/۶ به‌دست آمد (شکل ۲). پایداری غشاء سلولی تحت تنش شوری به‌منزله یک شاخص مهم تحمل به تنش شوری است. در واقع، نشت الکترولیت نیز به‌منزله یک شاخص مناسب دیگر از چگونگی آسیب‌های وارده به غشاء سلولی یاخته‌های برگ طی دوره تنش شوری مطرح باشد. محلول‌پاشی با عصاره جلبک با کاهش نشت الکترولیت در گیاه و افزایش محتوای آب برگ به رشد بهتر گیاه در شرایط تنش کمک کرده است (شکل ۲). عصاره جلبک دریایی با حفظ محتوای نسبی آب در گیاه از تغییرات آب سلول‌های گیاهی جلوگیری کرده و براین‌اساس، غشاءهای سلولی کمتر در معرض آسیب‌های تنش اکسیداتیو ناشی از تنش شوری قرار گرفته و تمامیت غشاء سلولی محافظت می‌کند (Xu & Leskovar, 2015).

جدول ۲- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثرات تنش شوری، جلبک دریایی و پوترسین بر پتاسیم، سدیم، پرولین، قند محلول و نشت یونی برگ‌های گل‌گاوزبان

Table 2- ANOVA (mean square) for the effects of salinity stress, Seaweed Extract and putrescine on potassium, sodium, proline, soluble sugar and ionic leakage of the *E.amoenum* leaves

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	سدیم Na+	پتاسیم K+	پرولین Proline	قند محلول Soluble sugar	محتوای نسبی آب برگ Relative leaf water content	نشت الکترولیت Electrolyte leakage
شوری Salinity	2	377.21**	341.42**	167.21**	1.8**	1716.72**	13714.05**
جلبک دریایی Seaweed	1	2.61*	23.1**	7.34**	0.228**	501.38**	48.34**
شوری × جلبک دریایی Salinity × seaweed	2	0.042 ^{ns}	0.78 ^{ns}	1.2**	0.002 ^{ns}	5.38 ^{ns}	5.72 ^{ns}
خطا Error	30	0.36	0.72	0.15	0.004	22.6	26.3
ضریب تغییرات CV (%)		6.9	4.1	4.61	8.93	3.75	3.34



شکل ۲- تأثیر محلول پاشی با عصاره جلبک بر پارامترهای بیوشیمیایی گیاه گل گاوزبان تحت تنش شوری
Figure 2- The effect of foliar spraying of Seaweed extract on the biochemical parameters of *E. amoenum* under salt stress (DMRT, $P \leq 0.05$)

تأثیر محلول پاشی جلبک دریایی بر تغییرات سدیم و پتاسیم برگ گل گاوزبان تحت تنش شوری

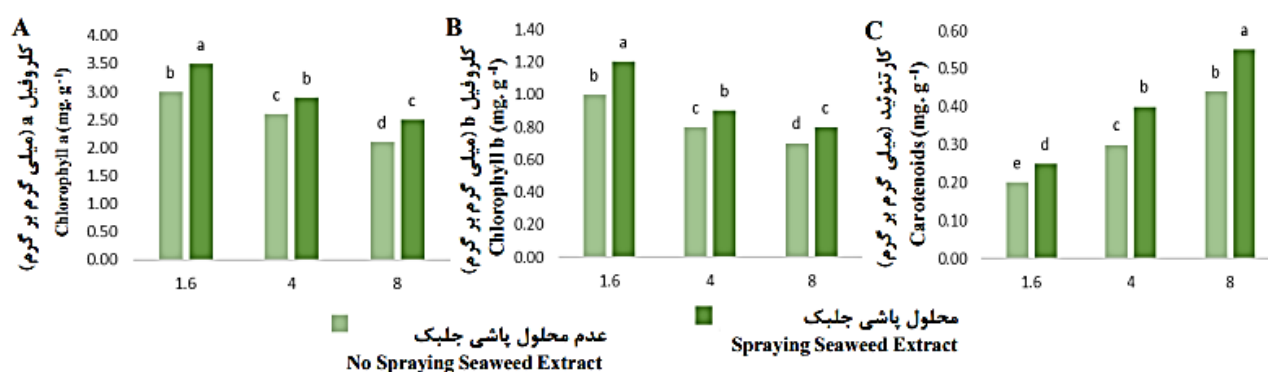
نتایج تجزیه واریانس نشان داد که میزان سدیم و پتاسیم تحت تأثیر اثرات ساده شوری و جلبک دریایی قرار گرفته است (جدول ۲). استفاده از عصاره جلبک دریایی سبب کاهش ۱۱ و ۱۵ درصدی میزان سدیم در غلظت‌های ۴ و ۸ شوری شده است (شکل ۴) همچنین استفاده از جلبک دریایی جذب پتاسیم را ۳۳ و ۲۴ درصد را در این غلظت‌ها شوری افزایش داد (شکل ۴). نتایج این پژوهش با مطالعات صورت گرفته روی سازوکار عمل گیاه برای مقاومت در برابر تنش شوری هم‌خوانی دارد. هنگام تنش شوری، گیاه با افزایش جذب پتاسیم باعث افزایش فعالیت کانال‌های یونی گردیده و شدت تنش را تعدیل می‌کند (Ramandi & Seifi, 2023; Shabala & Kein, 2008). در تحقیقات دیگر پژوهشگران نشان داده شد که شوری باعث کاهش جذب پتاسیم توسط ریشه و کاهش پتاسیم در برگ‌های زیرین شد. کاهش غلظت پتاسیم بافت‌های گیاهی می‌تواند به دلیل رقابت آن با سدیم بر سر مکان‌های اتصال به ناقل‌های غشاء پلاسمایی و یا نشت پتاسیم به دلیل عدم ثبات غشاء پلاسمایی است (Chartzoulakis, 2005).

تأثیر محلول پاشی جلبک دریایی بر تغییرات کلروفیل گیاه گل گاوزبان تحت تنش شوری

بررسی اثرات متقابل جلبک دریایی در شوری بر میزان کلروفیل‌های برگ نشان داد که کاربرد جلبک دریایی و پوترسین باعث افزایش میزان کلروفیل‌های a و b برگ نسبت به شاهد گردید (جدول ۳، شکل ۳). استفاده از عصاره جلبک دریایی سبب شد که میزان کلروفیل a و b تحت تنش شوری، کاهش کمتری نسبت به شاهد داشته باشد (شکل ۳) و از این رو به رشد بهتر گیاه تحت تنش شوری کمک کرده است (شکل ۱). افزایش غلظت کلروفیل در اثر کاربرد عصاره جلبک دریایی در گیاهان مختلف گزارش شده است. این افزایش به دلیل کاهش تخریب کلروفیل و تأخیر در پیری آن بوده و مربوط به افزایش تولید کلروفیل نمی‌شود (Guinan et al., 2012). تنش شوری منجر به افزایش غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد مانند اسیدآبسیزیک و اتیلن می‌شود که تحریک‌کننده آنزیم کلروفیل‌لاز هستند و به این ترتیب کلروفیل تجزیه می‌شود. همچنین تنش شوری باعث ایجاد تغییرات در رنگدانه‌های فتوسنتزی، تخریب سیستم فتوسنتزی و کاهش فعالیت آنزیم‌های چرخه کلورین می‌شود که عوامل مهمی در کاهش رشد گیاه می‌باشد (Fu & Uang, 2001). در پژوهشی، استفاده از عصاره جلبک دریایی *A. nodosum* در گوجه فرنگی در شرایط تنش خشکی باعث افزایش کلروفیل کل شد (Goñi et al., 2016).

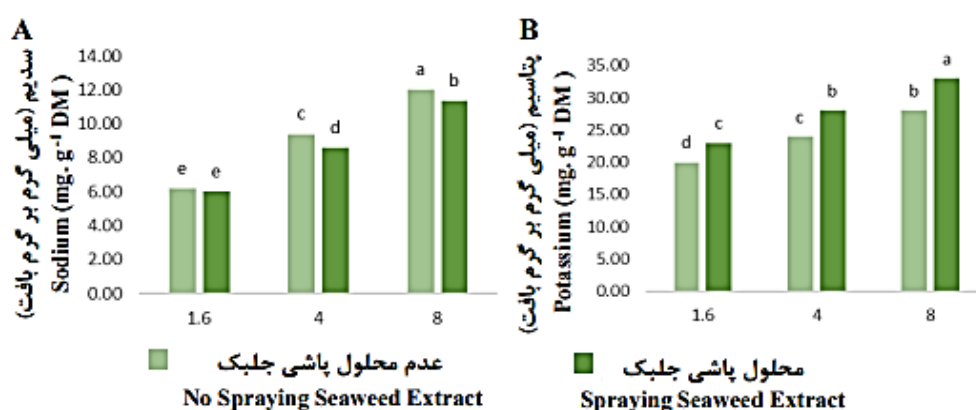
جدول ۳- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثرات تنش شوری، جلبک دریایی بر کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید برگ‌های گل‌گاوزبان
Table 3- ANOVA (mean square) for the effects of salinity stress, Seaweed extract and putrescine on the chlorophyll a, chlorophyll b and carotenoids of the *E.amoenum* leaves

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل a Chlorophyll a	کاروتنوئید Carotenoid
شوری Salinity	2	0.228**	1.36**	0.046**
جلبک دریایی Seaweed	1	0.017*	1.03**	0.073**
شوری × جلبک دریایی Salinity × seaweed	2	0.001 ^{ns}	0.0002 ^{ns}	0.002 ^{ns}
خطا Error	30	0.003	0.012	0.001
ضریب تغییرات CV (%)		6.64	3.97	9.5



شکل ۳- تأثیر محلول پاشی با عصاره جلبک بر محتوی کلروفیل گیاه گل‌گاوزبان تحت تنش شوری

Figure 3- The effect of foliar spraying of Seaweed extract on the chlorophyll content of *E. amoenum* under salt stress (DMRT, $P \leq 0.05$)



شکل ۴- تأثیر محلول پاشی با عصاره جلبک بر غلظت سدیم و پتاسیم برگ گل‌گاوزبان تحت تنش شوری

Figure 4- The effect of foliar spraying of Seaweed extract on the sodium and potassium concentration of *E. amoenum* leaves under salt stress (DMRT, $P \leq 0.05$)

نتیجه گیری

با توجه به نتایج به دست آمده در این تحقیق می توان بیان کرد که گیاه گل گاوزبان در شرایط تنش شوری با ایجاد تغییر در برخی از خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی مانند کاهش صفات رشدی، خود را با شرایط تنش سازگار می کند. همچنین نتایج این تحقیق نشان از آن داشت که استفاده از عصاره جلبک دریایی با تأثیر بر افزایش میزان

پروکلین و جذب پتاسیم در بافت، به گیاه در برابر حفظ شرایط خود در برابر تنش شوری کمک می کند. علاوه بر این، محلول پاشی با عصاره جلبک دریایی سبب حفظ ساختار کلروفیل در گیاه تحت تنش شوری شده و از این طریق، با افزایش کارایی فتوسنتزی به رشد بهتر گیاه تحت تنش شوری کمک می کند. در نتیجه، استفاده از عصاره جلبک دریایی می تواند یک روش کارآمد و کم هزینه جهت ایجاد تحمل به شوری در گیاهان به ویژه در گیاهان دارویی باشد.

References

- 1- Al-Said, M.A., & Kamal, A.M. (2008). Effect of foliar spray with folic acid and some amino. acids on flowering, yield and quality of sweet pepper. *Journal of Agricultural Science, Mansoura University*, 33(10), 7403-7412.
- 2- Alharbi, K., Amin, M.A., Ismail, M.A., Ibrahim, M.T., Hassan, S.E.D., Fouda, A., Eid, A.M., & Said, H.A. (2022). Alleviate the drought stress on *Triticum aestivum* L. using the algal extracts of *Sargassum latifolium* and *Corallina elongate* versus the commercial algal products. *Life*, 12(11), 1757.
- 3- Anisimov, M.M., & Chaikina, E.L. (2014). Effect of seaweed extracts on the growth of seedling roots of soybean (*Glycine max* L.) Merr.) seasonal changes in the activity. *International Journal of Current Research and Academic Review*, 2(3), 19-23.
- 4- Asch, J., Johnson, K., Mondal, S., & Asch, F. (2022). Comprehensive assessment of extraction methods for plant tissue samples for determining sodium and potassium via flame photometer and chloride via automated flow analysis. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 185(2), 308-316.
- 5- Afzal, S., Chaudhary, N., & Singh, N.K. (2021). Role of soluble sugars in metabolism and sensing under abiotic stress. Plant growth regulators: Signalling under stress conditions. In *Plant Growth Regulators*. Springer, pp. 305-334. https://doi.org/10.1007/978-3-030-61153-8_14
- 6- Bates, L.S., Waldren, R.P.A., & Teare, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39, 205-207.
- 7- Chantzoulakis, K. (2005). Salinity and olive: growth salt tolerance photosynthesis and yield. *Agriculture Water Managemet*, 78, 108–121. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2005.04.025>
- 8- Coubier, S., Grevink, S., Sluijs, E., Bonhomme, P.O., Kajala, K., Van Wees, S.C., & Pierik, R. (2020). Far-red light promotes Botrytis cinerea disease development in tomato leaves via jasmonate-dependent modulation of soluble sugars. *Plant Cell and Environment*, 43(11), 2769-2781. <https://doi.org/10.1111/pce.13870>
- 9- Esmailpour, B., & Fatemi, H. (2020). Effects of seaweed extract on physiological and biochemical characteristics of basil (*Ocimum basilicum* L.) under water-deficit stress conditions. *Journal of Soil and Plant Interactions Isfahan University of Technology*, 11(1), 59-69. <https://doi.org/10.47176/jspi.11.1.10288>
- 10- Faten, S., Abd El-Aal, Shaheen, A.M., Ahmed, A.A., & Mahmoud, A.R. (2010). Effect of foliar application of urea and amino acids mixtures as antioxidants on the growth and yield and characteristics of squash. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 6(5), 583-588.
- 11- Fu, J., & B. Huang. (2001). Involvement of antioxidants and lipid peroxidation in the adaptation of two cool-season grasses to localized drought stress. *Journal Environmental and Experimental Botany*, 45, 105–114.
- 12- Goñi, O., Fort, A., Quille, P., McKeown, P.C., Spillane, C., & O'Connell, S. (2016). Comparative transcriptome analysis of two *Ascophyllum nodosum* extract biostimulants: Same seaweed but different. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64, 2980–2989. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b00621>
- 13- Gurrieri, L., Merico, M., Trost, P., Forlani, G., & Sparla, F. (2020). Impact of drought on soluble sugars and free proline content in selected *Arabidopsis* mutants. *Biology*, 9(11), 367. <https://doi.org/10.3390/biology9110367>
- 14- Guinan, K.J., Sujeeth, N., Copeland, R.B., Jones, P.W., O'brien, N.M., Sharma, H.S.S., Prouteau, P.F.J., & O'sullivan, J.T. (2012). Discrete roles for extracts of *Ascophyllum nodosum* in enhancing plant growth and tolerance to abiotic and biotic stresses. In *I World Congress on the Use of Biostimulants in Agriculture*, 1009, 127-135.
- 15- Jabbar, A.A., Abdullah, F.O., Hassan, A.O., Galali, Y., Hassan, R.R., Rashid, E.Q., Salih, M.I. & Aziz, K.F. (2022). Ethnobotanical, phytochemistry, and pharmacological activity of onosma (Boraginaceae): An updated review. *Molecules*, 27(24), 8687. <https://doi.org/10.3390/molecules27248687>
- 16- Mutale-Joan, C., Rachidi, F., Mohamed, H.A., Mernissi, N.E., Aasfar, A., Barakate, M., Mohammed, D., Sbabou, L., & Arroussi, H.E. (2021). Microalgae-cyanobacteria-based biostimulant effect on salinity tolerance mechanisms, nutrient uptake, and tomato plant growth under salt stress. *Journal of Applied Phycology*, 33, 3779-3795. <https://doi.org/10.1007/s10811-021-02559-0>
- 17- Nikbakht, A., & Kafi, M. (2008). The history of traditional medicine and herbal plants in Iran. *Acta Horti*, 790, 255-258. <https://doi.org/10.17660/ActaHorti.2008.790.37>

- 18- Nourashrafeddin, S.M., Ramandi, A., & Seifi, A. (2023). Rhizobacteria isolated from xerophyte *Haloxylon ammodendron* manipulate root system architecture and enhance drought and salt tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *International Microbiology*, 27(2), 1-11. <https://doi.org/10.1007/s10123-023-00394-6>
- 19- Latigue, S., & Candidate, D. (2013). Seaweed liquid fertilizer effect on physiological and biochemical parameters of bean plant (*Phaesolus vulgaris* variety Paulista) under hydroponic system. *European Scientific Journal*, 9(30), 174-191.
- 20 - Punitha, P., Priyadharshini, P., Nanthini Devi, K., Dinesh Kumar, S., Roopavathy, J., Begum, A., Santhanam, P., & Perumal, P. (2024). Effect of seaweed liquid extract as an organic biostimulant on the growth, fatty acids and high-value pigment production of *Vigna radiata*. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 14(6), 7345-7357. <https://doi.org/10.1007/s13399-022-03048-1>
- 21- Pan, W., Cheng, X., Du, R., Zhu, X., & Guo, W. (2024). Detection of chlorophyll content based on optical properties of maize leaves. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 309, 123-843. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2024.123843>
- 22- Ramandi, A., Naseri, M., & Yousefijavan, I. (2022). The Effect of aqueous extract of crocus sativus style on blood coagulation indices in Rats. *Journal of Saffron Research*, 10(1), 168-160. <https://doi.org/10.22077/jsr.2022.4950.1176>
- 23- Ramandi, A., Javan, I.Y., Tazehabadi, F.M., Asl, G.I., Khosravanian, R., & Ebrahimzadeh, M.H. (2019). Improvement in seed surface sterilization and *in vitro* seed germination of ornamental and medicinal plant- *Catharanthus roseus* (L.). *Chiang Mai Journal of Science*, 46(6), 1107-1112.
- 24- Ramandi, A., & Seifi, A. (2023). *Cupriavidus metallidurans* bacteria enhance sodium uptake by plants. *Rhizosphere*, 27, 100767.
- 25- Rosa, M., Prado, C., Podazza, G., Interdonato, R., González, J.A., Hilal, M., & Prado, F.E. (2009). Soluble sugars: Metabolism, sensing and abiotic stress: A complex network in the life of plants. *Plant Signaling and Behavior*, 4(5), 388-393.
- 26- Savage, J.A., Hudzinski, S.J., & Olson, M.R. (2024). Use of electrolyte leakage to assess floral damage after freezing. *Applications in Plant Sciences*, 12(5), 1-8. <https://doi.org/10.1002/aps3.11569>
- 27- Shabala, S., & Pottosin, I. (2014). Regulation of potassium transport in plants under hostile conditions: implications for abiotic and biotic stress tolerance. *Physiologia Plantarum*, 151(3), 257-279.
- 28- Shabala, S., & Cuin, T.A. (2008). Potassium transport and plant salt tolerance. *Physiologia Plantarum*, 133(4), 651-669.
- 29- Sayyari Zahan, M.H., Sayyadi Anari, M.H., Zamani, G., Mahmoodi, S., & Golestanifar, F. (2022). The effect of two types of algae on the growth characteristics of bread wheat and basil under salinity stress. *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 15(3), 731-740.
- 30- Vaghparast, M., Maleki-Farahani, S., Sinaki, J.M., & Zarei, G. (2012). Mitigation of drought stress in chickpea through application of humic acid and seaweed extract. *Crop Production in Stress Environment*, 4, 59-71.
- 31- Xu, C., & Leskovar, D. (2015). Effects of *A. nodosum* seaweed extracts on spinach growth, physiology and nutrition valued under drought stress. *Scientia Horticulturae*, 183, 39-47. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2014.12.004>
- 32- Zarbakhsh, S., & Shahsavari, A.R. (2023). Exogenous γ -aminobutyric acid improves the photosynthesis efficiency, soluble sugar contents, and mineral nutrients in pomegranate plants exposed to drought, salinity, and drought-salinity stresses. *BMC Plant Biology*, 23(1), 543. <https://doi.org/10.1186/s12870-023-04568-2>
- 34- Zhao, C., Zhang, H., Song, C., Zhu, J.K., & Shabala, S. (2020). Mechanisms of plant responses and adaptation to soil salinity. *The Innovation*, 1(1), 1-41. <https://doi.org/10.1016/j.xinn.2020.100017>

Evaluation of Important Vegetative, Phenological and Pomological Characteristics of 36 Promising Almond (*Prunus dulcis* L.) Genotypes on GN15 Vegetative Rootstock

S.A. Mousavi^{1*}, A. Vatankhah², A. Imani³

1 and 2- Assistant Professor and Postdoctoral Researcher, Horticulture Crops Research Department, Chaharmahal and Bakhtiari Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Shahrekord, Iran

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

3- Professor, Temperate Fruits Research Center, Horticultural Research Institute, Agricultural Research, Education, and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran

Received: 26-05-2024
Revised: 08-07-2024
Accepted: 10-07-2024
Available Online: 10-07-2024

How to cite this article:

Mousavi, S.A., Vatankhah, A., & Imani, A. (2024). Evaluation of important vegetative, phenological and pomological characteristics of 36 promising almond (*Prunus dulcis* L.) genotypes on GN15 vegetative rootstock. *Journal of Horticultural Science*, 38(4), 705-726. (In Persian with English abstract).
<https://doi.org/10.22067/jhs.2024.88253.1347>

Introduction

Almond (*Prunus dulcis* L.) is one of the valuable nut trees that is cultivated in many temperate regions and Mediterranean climatic conditions for domestic consumption and export. Almond belongs to the genus *Prunus*, from the Rosaceae family. Identifying and introducing genotypes and cultivars of late bloom is one of the most important goals of almond breeding programs. The correct choice of almond rootstock causes better management of the garden, compatibility with all types of soil and resistance to nematodes. Peach × almond hybrid has been the most widely used rootstock in both dry and irrigated conditions in the past years. Creating an orchard by selecting grafted genotypes on suitable rootstock for sustainable cultivation of almonds is particularly important. Cultivation of superior genotypes grafted on fruit trees has an effect on pomological characteristics, yield and quality of nuts. The requirement for the introduction and production of superior cultivars is an accurate selection between cultivars, which is possible through the identification of cultivars and their diversity. The purpose of this research is to investigate and evaluate the most important vegetative, phenological, quantitative, and qualitative characteristics of nuts and kernels in 36 promising cultivars and genotypes grafted onto GN15 rootstock, with the goal of identifying and introducing superior cultivars.

Materials and Methods

In this research, 36 promising almond cultivars and genotypes on GN15 rootstock were investigated in garden conditions in terms of various vegetative traits, nut and kernel characteristics in order to obtain suitable commercial cultivars. This research was conducted at the Badam research station in Saman region affiliated to the Center for Research and Education of Agriculture and Natural Resources of Chaharmahal and Bakhtiari province as a randomized complete block design with three replications. The cultivars and genotypes studied are presented in Table 1. Vegetative traits of tree height, canopy length, canopy width, and branch length were measured by meter in the garden, and rootstock diameter, scion diameter, and branch diameter were measured in the garden with calipers. In order to measure the nut and kernels, 100 fruits were harvested from each of the studied cultivars and genotypes at the time of fruit ripening, and their green shell was separated and dried. Measurement of traits such as length, width, diameter of nut and kernel was done by digital caliper and weight of nut and kernel was measured by digital scale with accuracy of 0.01. Coding of some traits was done based on almond descriptor (Gülcan, 1985) with some



©2024 The author(s). This is an open access article distributed under [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

<https://doi.org/10.22067/jhs.2024.88253.1347>

changes. The data obtained from the experiment were analyzed using SAS software (version 3.1.9). To compare the means, Duncan's multiple range test was used at the 5% probability level.

Table 1- Promising cultivars and genotypes examined in this study (based on the sent label of the scion)

Cultivar/genotype	Cultivar/genotype code	Cultivar/genotype	Cultivar/genotype code
TS-16	GA1	2-29 (D7)	GA 19
D	GA 2	100-1-1	GA 20
TS-21	GA 3	2-0-4	GA 21
TS-14	GA 4	3-1-4	GA 22
Aviz	GA 5	TS-18	GA 23
A8	GA 6	D2	GA 24
B8	GA 7	TS-30	GA 25
100-1-8-1	GA8	1306 (Tabriz genotype)	GA 26
2-3-2	GA 9	AH2 (Tabriz genotype)	GA 27
TS-11	GA 10	108 (Tabriz genotype)	GA28
(1/16) 1-16	GA 11	Yalda	GA29
3-1-15	GA 12	Saba	GA 30
13-40	GA 13	Shamshiri (Shahrekord)	GA 31
TS1	GA 14	AY (Shahrekord)	GA 32
8-35	GA 15	Mamaei	GA 33
85	GA 16	AN2 (Shahrekord)	GA 34
35	GA 17	AN4 (Shahrekord)	GA 35
B6	GA 18	AN5 (Shahrekord)	GA 36

Results and Discussion

According to the results of analysis of variance (ANOVA), there was a statistically significant difference at the level of 1% between the attributes of tree height, canopy width, rootstock and scion diameter, branch length and diameter, and the ratio of tree height to canopy length. ($P < 0.01$). The results of variance analysis show that there is a significant difference between the investigated nut and kernel traits in promising cultivars and genotypes grafted on GN (Table 5). These differences show the diversity in the investigated traits and it is possible to choose cultivars for different values of the same trait. Based on the average comparison results of the vegetative traits, the highest height in genotypes GA4, GA3, GA35, The highest canopy width was observed in genotypes GA5, GA17, GA3, and GA20, GA15, GA5, the highest diameter of rootstock and scion, and the highest length and diameter of one-year branches were observed in genotype GA18. The results of the comparison of the average nut and kernel characteristics show that there is a significant difference in the cultivars and genotypes investigated in this research. The results of the comparison of the average nut and kernel characteristics show that there is a significant difference in the cultivars and genotypes investigated in this research. Based on the obtained results, cultivars and genotypes of GA5, GA24, GA12, GA9 and GA1 showed relative superiority in terms of nut and kernel traits. The results of this research showed that the GA35 genotype grafted on the GN15 rootstock had the highest length, width and diameter of the nut, and the highest weight of nut and kernel. The kernel color light, the without shrinking the kernel and the highest percentage of kernel and the highest ratio of kernel weight to nut weight.

Conclusions

The results of this research showed that the examination of vegetative traits, nuts and kernels in the studied cultivars and genotypes could show the diversity between cultivars and genotypes. The results showed that the investigated cultivars and genotypes have significant differences in terms of all nut and kernel traits, which indicates the existence of diversity between the investigated cultivars and genotypes. This indicates that these cultivars and genotypes can be considered a valuable source of germplasm for breeding programs. Cultivars and genotypes with a higher kernel percentage had thinner shells, more patterns on the skin, and light to medium kernel color. Based on the results, the cultivars and genotypes GA5, GA24, GA12, GA9, and GA1 demonstrated relative superiority in terms of nut and kernel traits. The research also showed that the GA35 genotype grafted onto GN15 rootstock had the greatest nut length, width, and diameter, as well as the highest nut and kernel weight. Additionally, GA35 had light kernel color, no kernel shrinkage, the highest kernel percentage, and the highest kernel-to-nut weight ratio.

Keywords: Kernel, Nuts, Superior genotype, Vegetative rootstock, Vegetative traits

مقاله پژوهشی

جلد ۳۸، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۳، ص. ۷۲۶-۷۰۵

ارزیابی خصوصیات مهم رویشی، فنولوژی و میوه‌شناختی ۳۶ ژنوتیپ امیدبخش بادام (*Prunus dulcis* L. روی پایه رویشی GN۱۵

سید اصغر موسوی^{۱*} - اکرم وطن خواه^۲ - علی ایمانی^۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۳/۰۶

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۴/۲۰

چکیده

این پژوهش به منظور بررسی خصوصیات رویشی، کمی و کیفی خشک‌میوه و مغز در ۳۶ رقم و ژنوتیپ امیدبخش بادام (*Prunus dulcis* L.) انجام شد. ارقام و ژنوتیپ‌های امیدبخش در یک شرایط محیطی یکسان در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در ایستگاه تحقیقات بادام در منطقه سامان وابسته به مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان چهارمحال و بختیاری روی پایه رویشی GN۱۵ در سال ۱۳۹۷ پیوند و در بهار، تابستان و پاییز ۱۴۰۲ از نظر صفات مهم رویشی، فنولوژیکی، کمی و کیفی خشک‌میوه و مغز ارزیابی و مقایسه شدند. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که صفات ارتفاع درخت، عرض تاج‌پوشش درخت، قطر پایه و پیوندک، طول و قطر شاخه و نسبت ارتفاع به طول تاج‌پوشش درخت در ارقام و ژنوتیپ‌های مورد بررسی معنی‌دار بود. نتایج نشان داد که ارقام و ژنوتیپ‌های مورد بررسی از نظر کلیه صفات خشک‌میوه و مغز تفاوت معنی‌داری داشتند که نشان‌دهنده وجود تنوع بین ارقام و ژنوتیپ‌های مورد بررسی است. براساس نتایج مقایسه میانگین صفات رویشی، بیشترین ارتفاع در ژنوتیپ‌های GA۴، GA۳ و GA۳۵، بیشترین عرض تاج‌پوشش درخت در ژنوتیپ‌های GA۵، GA۱۷، GA۳، GA۲۰، GA۱۵ و GA۵ و بیشترین قطر پایه و پیوندک و بیشترین طول و قطر شاخه یک‌ساله در ژنوتیپ GA۱۸ مشاهده شد. بیشترین عملکرد در ژنوتیپ‌های GA۲۰، GA۱۶ و GA۲۶ مشاهده شد. براساس نتایج به‌دست آمده، ارقام و ژنوتیپ‌های GA۵، GA۲۴، GA۱۲، GA۹ و GA۱ از نظر صفات خشک‌میوه و مغز برتری نسبی نشان دادند به‌طوری‌که ژنوتیپ GA۲۴ نسبتاً دیرگل، ژنوتیپ‌های GA۱ و GA۵ خیلی دیرگل بودند و گل‌دهی ارقام و ژنوتیپ‌های GA۹، GA۱۲ و GA۲۴ روی اسپور و GA۱ و GA۵ مختلط بود. قطر خشک‌میوه همبستگی مثبت و معنی‌داری با وزن خشک‌میوه و طول و قطر مغز ($r=0.7$) نشان داد. نتایج این پژوهش نشان داد که ژنوتیپ GA۳۵ پیوند شده روی پایه GN۱۵ بیشترین طول، عرض و قطر خشک‌میوه، بیشترین وزن خشک و وزن مغز، رنگ مغز روشن، مغز بدون چروکیدگی، بیشترین درصد مغز و بیشترین نسبت وزن مغز به وزن خشک‌میوه را دارا بود.

واژه‌های کلیدی: پایه رویشی، خشک‌میوه، ژنوتیپ برتر، صفات رویشی، مغز

مقدمه

برای مصرف داخلی و صادرات کشت می‌شود (Yada et al., 2011). بادام با نام علمی *Prunus dulcis* L. متعلق به جنس *Prunus*، زیرگونه *Amygdalus* از خانواده Rosaceae است (Kester & Gradziel, 1996). مغز بادام حاوی مواد غذایی با ارزشی از جمله روغن، پروتئین، کربوهیدرات‌ها، ویتامین‌ها و مواد معدنی است (Ayaz et al., 2020; Barreca et al., 2020; Zahedi et al., 2020). ایران با سطح زیر کشت ۷۹۳۹۲ هکتار، یکی از مهم‌ترین تولیدکنندگان بادام محسوب می‌شود و با تولید سالانه حدود ۱۶۴۳۴۸ تن، رتبه سوم جهان را پس از آمریکا و اسپانیا به خود اختصاص داده است (FAO, 2021). بادام، درختی است که در شرایط آب‌وهوایی

بادام (*Prunus dulcis* L.) یکی از درختان خشک‌میوه با ارزش است که در بسیاری از مناطق معتدل و شرایط آب‌وهوایی مدیترانه‌ای

۱ و ۲- به ترتیب استادیار و پژوهشگر پسا دکتری، بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان چهارمحال و بختیاری، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شهرکرد، ایران
(*) نویسنده مسئول: (Email: asgharmousavi@gmail.com)
۳- استاد، پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری، مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
<https://doi.org/10.22067/jhs.2024.88253.1347>

مدیرانه‌ای و در نواحی دارای تابستان‌های گرم و خشک و زمستان ملایم به‌خوبی رشد می‌کند، بنابراین به‌منظور دستیابی به عملکرد و کیفیت بالا، انتخاب مکان مناسب ضروری است و عدم توجه به اقلیم مناسب منجر به شکست باغداری می‌شود (Babadai et al., 2017). دما یکی از مهم‌ترین فاکتورهای اقلیمی برای کشت و پرورش درختان میوه مناطق معتدله از جمله بادام می‌باشد. درختان بادام توان مقاومت به گرمای شدید تابستان (۴۵ درجه سانتی‌گراد) و سرمای سخت زمستان (۲۲- درجه سانتی‌گراد) را دارند. رشد مطلوب و تولید محصول اقتصادی درختان بادام در یک محدوده دمایی خاص (به‌طور میانگین، ۲۵- ۱۸ درجه سانتی‌گراد و حداکثر ۳۵ درجه سانتی‌گراد) انجام می‌شود که باید این نیازهای دمایی در محل احداث باغ در طول فصل رشد فراهم باشد تا با اطمینان خاطر اقدام به احداث باغ شود. سرمای دیرس بهار و سرمای شدید زمستانه از مهم‌ترین محدودیت‌های دمایی هستند که در تولید محصول بادام اختلال ایجاد می‌کنند (Babadai et al., 2017).

یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده تولید بادام در جهان، خسارات ناشی از سرمازدگی بهار است. گل‌های بادام زود باز شده و منجر به خسارات سرمازدگی بهار می‌شوند، بنابراین کشت و تولید آن در مناطقی با سرمای بهار محدود است. بنابراین، شناسایی و معرفی ژنوتیپ‌ها و ارقام دیرگل یکی از مهم‌ترین اهداف برنامه‌های اصلاحی بادام است (Beigi & Khadivi, 2023). انتخاب پایه مناسب بادام موجب مدیریت بهتر باغ، سازگاری با انواع خاک‌ها و مقاومت در برابر نماتدها می‌شود. هیبرید هلو × بادام (*Prunus persica* × *Prunus dulcis*) پرکاربردترین پایه هم در شرایط دیم و هم در شرایط آبی در سال‌های گذشته بوده است. ایجاد باغی با انتخاب ژنوتیپ‌های پیوند شده روی پایه‌های مناسب برای کشت پایدار بادام اهمیت ویژه‌ای دارد، کشت ژنوتیپ‌های پیوند شده روی پایه درختان میوه بر ویژگی‌های پومولوژیک میوه، عملکرد و کیفیت میوه تأثیرگذار است (Ranjbar & Imani, 2022). هیبریدهای بادام × هلو مقاوم به نماتد بوده و به‌دلیل قابلیت رشد در هر دو شرایط آبی و دیم و سازگار با شرایط مدیرانه‌ای، به پایه‌های غالب تبدیل شده‌اند (Çantal, 2022; Rubio-Cabetas, 2016). یکی از گام‌های اساسی در حفظ ذخایر ژنتیکی، شناسایی و ارزیابی ژرم‌پلاسم برتر است که پایه اساسی تحقیقات ژنتیکی و برنامه‌های به‌نژادی است. لازمه معرفی و تولید ارقام برتر، انتخاب دقیق بین ارقام است که از طریق شناسایی ارقام تنوع بین آن‌ها امکان‌پذیر است (Imani et al., 2021; Khadivi- & Etemadi-Khah, 2015). نشانگرهای ریخت‌شناختی که پیامد جهش‌های قابل رؤیت در ریخت‌شناسی موجودات می‌باشند، از ساده‌ترین نشانگرهای ژنتیکی بوده و از اوایل قرن بیستم مورد استفاده قرار گرفته‌اند. امروزه، استفاده از این قبیل نشانگرها به‌دلیل داشتن معیایی از قبیل محدود بودن تعداد، تأثیرپذیری از مرحله رشد گیاه و

شرایط محیطی، عدم تظاهر در مراحل اولیه و کم بودن چند شکلی محدود شده است، اما با این وجود، نشانگرهای مورفولوژیک همچنان نقش مهمی را در بررسی تنوع و ثبت قابلیت‌های گیاهان دارا می‌باشند و در گیاهان یک‌سری صفات مورفولوژیک به‌عنوان عوامل اصلی و کلیدی شناسایی گیاهان جدید محسوب می‌شوند (Sorkheh et al., 2009). آشنایی با خصوصیات و تفاوت‌های بین ژنوتیپ‌ها یک امر اساسی برای بهبود کمیت و کیفیت میوه می‌باشد و با داشتن اطلاعات دقیق‌تر از خصوصیات فنوتیپی و ژنتیکی ارقام بادام می‌توان از طریق برنامه‌های اصلاحی به ارقام جدیدتر با عملکرد بیشتر و کیفیت بهتر دست یافت. اولین قدم برای بررسی و طبقه‌بندی منابع گیاهی بومی و محلی، استفاده از صفات ریخت‌شناختی است. ارزیابی صفات ریخت‌شناختی بادام برای انتخاب ارقام ضروری است و در گذشته تنها ابزار تشخیص ارقام بود. این ارزیابی براساس مشاهدات فنوتیپی است و شامل خصوصیات درخت، برگ، فنولوژی گل، خشک‌میوه و مغز می‌باشد (Gülcan, 1985; Mougiou et al., 2023).

در مطالعه‌ای، میزان تنوع در ۸۸ رقم بادام از نظر ۲۰ صفت پوسته و هسته در جنوب ایتالیا مورد بررسی قرار گرفت. نتایج تجزیه خوشه‌ای، این صفات را در هفت گروه قرار داد. مهم‌ترین فاکتورها در خوشه‌بندی، درصد دوقلویی و به دنبال آن ضخامت خشک‌میوه و درصد مغز بود (De Giorgio & Polignano, 2001). در پژوهش دجرجیو و همکاران (De Giorgio et al., 2007)، ۵۲ رقم بادام جنوبی ایتالیا ارزیابی و گزارش شد که این ارقام از نظر صفاتی مانند دوقلویی مغز، درصد مغز، وزن خشک‌میوه و مغز، چربی کل و سطوح آلفا توکوفرول، بیشترین تنوع را نشان دادند. آلفا توکوفرول، درصد دانه‌ها و دوقلویی مغز بیشترین تغییرات و وزن هسته کمترین تغییرات را نشان داد. در پژوهش دیگری، خصوصیات ریخت‌شناختی ۳۶ رقم بادام براساس ۲۰ صفت کمی و کیفی، بیشتر برای خشک‌میوه و مغزها ارزیابی و تنوع زیادی بین ارقام گزارش شد (Chalak et al., 2007). در پژوهش بیگی و خدیوی (Beigi & Khadivi, 2023) با بررسی خصوصیات ریخت‌شناسی، خشک‌میوه و مغز ۱۹۸ نهال بادام دیرگل و دارای مغز با کیفیت بالا، ۱۹ ژنوتیپ دیرگل و امیدبخش بادام معرفی شد. در پژوهش نیکی موگویی و همکاران (Mougiou et al., 2023) پس از بررسی خصوصیات ریخت‌شناسی و مولکولی یک رقم جدید بادام به نام 'Mars' به‌عنوان یک رقم خود سازگار با ویژگی‌های زراعی خوب برای استفاده در باغات تک رقمی معرفی شد.

عسگری و خدیوی (Asgari & Khadivi, 2021) با بررسی صفات ریخت‌شناختی و میوه‌شناختی ژنوتیپ‌های بادام، ۲۱ ژنوتیپ را مطابق با خصوصیات تجاری بادام شامل عملکرد، وزن خشک‌میوه، سختی پوست، وزن مغز، درصد مغز و عطر و طعم مغز برای عرضه و

انتخاب ژئوتیپ‌های برتر و مقاوم به سرمای زمستانه مورد بررسی قرار گرفتند. پس از ارزیابی ارقام و ژئوتیپ‌ها براساس زمان گل‌دهی، مقاومت در برابر سرمازدگی دیررس بهار و تشکیل میوه، به چهار گروه تقسیم شدند: مقاوم در برابر سرمازدگی با تشکیل میوه زیاد (چهار هیبرید امیدبخش)، مقاومت متوسط در برابر سرما و میوه‌دهی متوسط (تونو، سوپرنوا، شاه‌رود ۷ و سهند)، مقاومت کم به سرما با میوه‌دهی کم (دو هیبرید امیدبخش)، غیر مقاوم به سرما بدون تشکیل میوه (۳۴۰ ژئوتیپ بادام، ۷۶ هیبرید انتخابی، ۱۷ رقم تجاری خارجی به‌ویژه (فلیپ سئو، نان پاریل، فراگنس و ...). هدف از انجام این پژوهش، بررسی و ارزیابی مهم‌ترین خصوصیات رویشی، فتولوژیکی، خصوصیات کمی و کیفی خشک‌میوه و مغز در ۳۶ رقم و ژئوتیپ امیدبخش بادام پیوند شده روی پایه GN۱۵ به‌منظور معرفی و انتخاب ارقام برتر است.

مواد و روش‌ها

مواد گياہی

در این پژوهش، ۳۶ رقم و ژنوتیپ بادام امیدبخش روی پایه رویشی GN۱۵ در شرایط باغ از نظر صفات مختلف رویشی، فنولوژی و خصوصیات خشک‌میوه و مغز به‌منظور دستیابی به ارقام مناسب تجاری بررسی شدند. ارقام و ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در **جدول ۱** ارائه شده است. پیوندک‌ها از ۳۶ رقم و ژنوتیپ امیدبخش انتخاب، و در نیمه اول مهر ۱۳۹۷ عملیات پیوند جوانه پیوندک از ارقام و ژنوتیپ‌های امیدبخش منتخب روی پایه GN۱۵ انجام شد. در اردیبهشت ماه ۱۳۹۸ عملیات کشت نهال‌های پیوندی گلدانی آماده شده از ارقام و ژنوتیپ‌های مختلف روی GN۱۵ در زمین اصلی انجام و بلافاصله به‌روش آبیاری تحت فشار قطره‌ای آبیاری شدند. درختان مورد نظر روی پایه GN۱۵ پیوند و به‌روش قطره‌ای آبیاری شدند و عملیات داشت برای همه درختان به‌طور یکسان انجام شد و پس از پنج سال داده‌برداری انجام شد. این پژوهش در ایستگاه تحقیقات بادام در منطقه سامان وابسته به مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان چهارمحال و بختیاری به‌صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. تعداد دو درخت در هر واحد آزمایشی وجود داشت. تعداد کل واحدهای آزمایشی ۱۰۸ بود و تعداد کل درخت‌های مورد آزمایش ۲۱۶ بود. نهال‌های مورد نظر پنج‌ساله بودند. صفات فنولوژی و رویشی، در بهار و تابستان و پاییز ۱۴۰۲ انجام شد و پس از میوه‌دهی و در زمان برداشت، میوه‌های درختان برداشت و میانگین عملکرد پس از پوست‌گیری و خشک شدن میوه‌ها اندازه‌گیری شد. صفات خشک‌میوه و مغز پس از برداشت، پوست‌گیری و خشک شدن، میوه‌ها اندازه‌گیری شدند.

کشت در باغات توصیه نمودند. در مطالعه خدیوی و همکاران (Khadiivi et al., 2022)، خصوصیات متنوع مورفولوژیک و پومولوژیک گونه *Prunus arabica* به عنوان یک منبع ژنتیکی مهم برای پرورش بادام بررسی شد و در نهایت، با توجه به مقاومت قابل توجه در برابر تنش های محیطی به عنوان یک منبع ارزشمند برای اصلاح پایه های بادام معرفی شد. در مطالعه حیدری و همکاران (Heidari et al., 2022)، پس از بررسی خصوصیات ریخت شناسی و میوه شناسی ۸۴ درخت بادام آبیاری نشده، تعداد ۱۱ ژنوتیپ براساس ویژگی های مهم تجاری مانند عملکرد میوه، وزن خشک میوه، سختی پوست، شکل مغز، وزن و مزه مغز به عنوان ژنوتیپ های امیدبخش در شرایط تنش خشکی معرفی شدند. در پژوهش ایمانی و همکاران (Imani et al., 2022) ارزیابی ویژگی های ریخت شناسی و میوه شناسی و عملکرد رقم ها و نژادگان های امیدبخش بادام به منظور انتخاب بهترین رقم ها صورت گرفت. نتایج حاصل از بررسی صفات ریخت شناسی و میوه شناسی نشان داد که نژادگان های K9-7، K2-22، K3-16، K2-9، Sh 15 و KD-11-01 و ارقام شکوفه، نون پاریل و پرایس دارای پوست کاغذی و بازاری پسندی خوبی هستند. ارقام شکوفه، فرانیس، A230، A200 و نژادگان K13-40 به دلیل دیرگل بودن نسبت به رقم سفید به طور متوسط ۲۰ تا ۲۵ روز به طور احتمال کمتر در معرض سرمای بهاره قرار دارند. همچنین طی دو سال ۱۳۹۵ و ۱۳۹۶ بیشترین میزان عملکرد را ارقام فلیپ سئو، فرانیس و نژادگان های K9-24 و K8-24 دارا بودند. به طور کلی، رقم نون پاریل و نژادگان KD-11-01 از نظر پوست کاغذی و ارقام فرانیس، A230، A200 و نژادگان K13-40 با میوه پوست سبکی بهترین ارقام و نژادگان ها شناخته شدند.

در پژوهش موسوی و همکاران (Mousavi et al., 2010)، پس از بررسی خصوصیات کمی و کیفی ۵۵ رقم و ژنوتیپ بادام ایرانی و خارجی، ارقام شاهرود ۱۲، شاهرود ۷، شاهرود ۸-ب، زرقان ۷، فرانیس، شاهرود ۲۱، مامایی، نان پاریل، مونتری، سونورا، نی پلاس الترا، یلدا و ژنوتیپ‌های کا-۱۲۱-۴-۴، کا-۱۶-۱۶، کا-۱۱-۴۰-۴۰-کا-۱۵-۱۰ از نظر صفات خشک‌میوه و مغز برتری نسبی داشتند. در مطالعه موسوی و همکاران (Mousavi et al., 2020)، با بررسی خصوصیات خشک‌میوه و مغز ۳۵ رقم و نژادگان بادام ایرانی و خارجی، تنوع زیادی بین ارقام و نژادگان مشاهده کردند. در این پژوهش، ارقام شاهرود ۱۳، شاهرود ۲۱، شاهرود ۶، سفید، پریمورسکی، یلدا، شاهرود ۱۰، شاهرود ۱۲، مامایی، شاهرود ۷ و نژادگان‌های انتخابی AIM2، GM1، AHN2، AHYU و AHN1 از نظر صفات خشک‌میوه و مغز برتری نشان دادند.

در پژوهش ایمانی و همکاران (Imani et al., 2011) ۳۴۰ رزنوتیپ بادام از مناطق ایران، ۲۰ رقم خارجی، ۸۰ هیبرید امیدوارکننده حاصل از تلاقی‌های کنترل شده و ۱۰ رقم تجاری محلی برای

جدول ۱- ارقام و ژنوتیپ‌های امیدبخش بادام مورد بررسی در این مطالعه

Table 1- Promising almond cultivars and genotypes examined in this study

رقم/ژنوتیپ	کد رقم/ژنوتیپ	رقم/ژنوتیپ	کد رقم/ژنوتیپ
Cultivar/genotype	Cultivar/genotype code	Cultivar/genotype	Cultivar/genotype code
TS-16	GA1	2-29 (D7)	GA 19
D	GA 2	100-1-1	GA 20
TS-21	GA 3	2-0-4	GA 21
TS-14	GA 4	3-1-4	GA 22
Aviz	GA 5	TS-18	GA 23
A8	GA 6	D2	GA 24
B8	GA 7	TS-30	GA 25
100-1-8-1	GA8	1306 (Tabriz genotype)	GA 26
2-3-2	GA 9	AH2 (Tabriz genotype)	GA 27
TS-11	GA 10	108 (Tabriz genotype)	GA28
(1/16) 1-16	GA 11	Yalda	GA29
3-1-15	GA 12	Saba	GA 30
13-40	GA 13	Shamshiri (Shahrekord)	GA 31
TS1	GA 14	AY (Shahrekord)	GA 32
8-35	GA 15	Mamaei	GA 33
85	GA 16	AN2 (Shahrekord)	GA 34
35	GA 17	AN4 (Shahrekord)	GA 35
B6	GA 18	AN5 (Shahrekord)	GA 36

اندازه‌گیری صفات

صفات رویشی ارتفاع درخت، طول تاج‌پوشش درخت، عرض تاج‌پوشش درخت و طول شاخه در باغ با متر اندازه‌گیری شد و قطر پایه، پیوندک و شاخه در باغ توسط کولیس دیجیتال اندازه‌گیری شد (جدول ۲). صفات فنولوژیک با شروع گل‌دهی و ثبت زمان‌های مختلف گل‌دهی در بهار و صفات رویشی در تابستان و پاییز و میانگین عملکرد پس از پوست‌گیری و خشک شدن میوه‌ها به‌وسیله ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری صفات خشک‌میوه و مغز، تعداد ۱۰۰ میوه از هر یک از ارقام و ژنوتیپ‌های مورد بررسی در زمان رسیدن میوه در شهریور ماه از چهار جهت جغرافیایی درخت و از شاخه‌های مختلف به‌صورت تصادفی برداشت و بلافاصله به آزمایشگاه مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی شهرکرد منتقل شدند. سپس پوست سبز میوه‌ها جدا گردید و نمونه‌ها در محدوده دمایی ۲۶-۲۸ درجه سانتی‌گراد و در شرایط هوای آزاد خشک شدند. این نمونه‌ها جهت اندازه‌گیری صفات خشک‌میوه و مغز ارقام و ژنوتیپ‌های مورد بررسی استفاده شد. اندازه‌گیری صفاتی مانند طول، عرض، قطر میوه و مغز به‌وسیله دستگاه کولیس دیجیتال و اندازه‌گیری وزن خشک‌میوه و مغز به‌وسیله ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ انجام شد. میزان عملکرد براساس میانگین وزن خشک محصول در هر واحد آزمایشی (دو درخت) بر حسب گرم محاسبه شد. کددهی برخی صفات براساس توصیف‌گر بادام (Gülcan, 1985) با کمی تغییرات انجام شد (جدول ۲).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

آزمایش به‌صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام گردید. داده‌های حاصل از آزمایش با استفاده از نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۱/۳) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. به‌منظور تعیین همبستگی بین صفات رویشی، خشک‌میوه و مغز از ضرایب همبستگی پیرسون استفاده شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد استفاده شد.

نتایج

صفات رویشی

براساس نتایج تجزیه واریانس، بین صفات ارتفاع درخت، عرض تاج‌پوشش درخت، قطر پایه و پیوندک، طول و قطر شاخه و نسبت ارتفاع به طول تاج‌پوشش درخت از نظر آماری اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد مشاهده گردید. (ANOVA, $P < 0.01$). (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین اثر ارقام و ژنوتیپ‌های امیدبخش بر صفات رویشی نشان داد که بین صفات ارتفاع درخت، عرض تاج‌پوشش درخت، قطر پایه و پیوندک، طول و قطر شاخه و نسبت ارتفاع به طول تاج‌پوشش درخت از نظر آماری اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید. ژنوتیپ‌های GA۳، GA۳۵، GA۲۶، GA۱۹، GA۱۷، GA۱، GA۲۴ و GA۳۴ بیشترین ارتفاع درخت و ژنوتیپ‌های GA۳۰، GA۹، GA۳۳ و GA۶ کمترین ارتفاع درخت را داشت (جدول ۴). بیشترین عرض تاج‌پوشش درخت در ژنوتیپ‌های GA۱۷، GA۵ و GA۳ و کمترین عرض تاج‌پوشش درخت در ژنوتیپ‌های GA۳۲، GA۳۰ و GA۱۱ مشاهده شد. ژنوتیپ‌های GA۲۰، GA۱۵ و GA۵ بیشترین

($r=0/82$) و ضخامت پوسته چوبی ($r=0/7$) داشت. (جدول ۸). بین ارقام و ژنوتیپ‌های مورد بررسی، صفت دوقلویی از صفر تا خیلی کم و کم متغیر بود. از نظر صفت دوقلویی در اکثر ارقام میزان کمی مشاهده شد، در حالی که میزان دوقلویی ژنوتیپ GA۲۶ صفر بود (جدول ۶). میزان پوکی بین ارقام و ژنوتیپ‌های امیدبخش از دو تا چهار درصد متغیر بود. کمترین میزان پوکی را در ژنوتیپ‌های GA۱۳، GA۲۲، GA۳۰، GA۳۲، GA۷، GA۱۷، GA۳ و GA۳ مشاهده شد که نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها تفاوت معنی داری نشان داد (جدول ۶).

رنگ مغز در ارقام و ژنوتیپ‌های مورد بررسی از خیلی روشن تا تیره متغیر بود (جدول ۶). ژنوتیپ‌های GA۱۴ و GA۲۲ دارای رنگ مغز تیره و ژنوتیپ‌های GA۲، GA۲۳، GA۱۶، GA۱۹، GA۱۱، GA۲۵، GA۱۵، GA۸، GA۲۶، GA۳۴، GA۳۵، GA۳۶، GA۴ و GA۲۹ رنگ مغز خیلی روشن و سایر ژنوتیپ‌ها رنگ مغز متوسط را نشان دادند. ارقام و ژنوتیپ‌های مورد بررسی از نظر صفت چروکیدگی بین چروکیدگی کم و متوسط قرار داشتند. ژنوتیپ‌های GA۴، GA۱، GA۶، GA۱۸ و GA۲۲ دارای چروکیدگی متوسط بودند که نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها اختلاف معنی داری نشان دادند (جدول ۶). مطابق با نتایج مقایسه میانگین، سفتی پوست در ژنوتیپ‌های مورد بررسی از پوست سخت تا پوست کاغذی متغیر بود. ژنوتیپ‌های GA۲، GA۲۳، GA۱۹، GA۳۶ و GA۶ پوست نازک، ژنوتیپ‌های GA۲۵، GA۳۴، GA۳۲، GA۱۷، GA۳، GA۲۰، GA۴ و GA۱۸ پوست نیمه سخت و ژنوتیپ‌های GA۱۶، GA۸، GA۲۶، GA۳۵، GA۱۳، GA۲۷، GA۳۳، GA۳۱، GA۱۰ و GA۱۴ پوست سخت داشتند و سایر ژنوتیپ‌ها پوست کاغذی داشتند. مطابق با نتایج مقایسه میانگین، شکاف و درز روی پوست در بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی از بسته تا شکوفا متغیر بود. ژنوتیپ‌های GA۸، GA۱۳، GA۳۳، GA۳۱، GA۱۰، GA۳۴، GA۳۲، GA۳، GA۲۳، GA۷، GA۲۴ و GA۲۱ دارای درز و شکاف بسته و سایر ژنوتیپ‌ها درز و شکاف شکوفا داشتند (جدول ۶). بیشترین درصد مغز در ژنوتیپ GA۳۵ و کمترین میزان درصد مغز در ژنوتیپ GA۱۰ مشاهده شد. براساس نتایج، بیشترین نسبت عرض به طول مغز در ژنوتیپ GA۱۲ و کمترین نسبت در ژنوتیپ GA۳۶ مشاهده گردید. بیشترین نسبت ضخامت به طول و عرض مغز در ژنوتیپ GA۲۴ و کمترین نسبت در ژنوتیپ GA۳۶ مشاهده شد (جدول ۶). نسبت ضخامت به طول مغز همبستگی مثبت و معنی دار با نسبت ضخامت به طول خشک‌میوه ($r=0/7$) نشان داد و نسبت ضخامت به عرض مغز همبستگی مثبت و معنی داری با نسبت ضخامت به عرض خشک‌میوه ($r=0/9$) نشان داد (جدول ۸).

قطر پایه و پیوندک و ژنوتیپ GA۱۱، GA۳۲ و GA۲۷ کمترین قطر پایه و پیوندک را دارا بود و سایر ژنوتیپ‌ها حد فاصل ژنوتیپ‌های فوق قرار داشتند (جدول ۴). قطر پایه همبستگی مثبت و معنی داری با قطر پیوندک ($r=0/75$) داشت (جدول ۸).

بیشترین طول شاخه یک‌ساله (رشد سالیانه) در ژنوتیپ‌های GA۱۸، GA۸، GA۳۱، GA۴، GA۲۵، GA۱۵، GA۱۲، GA۲۴، GA۲۱ و GA۲۲ و کمترین طول شاخه یک‌ساله (رشد سالیانه) در ژنوتیپ‌های GA۷، GA۱۱ و GA۳۵ مشاهده شد (جدول ۴). طول شاخه همبستگی مثبت و معنی داری با قطر شاخه ($r=0/8$) داشت (جدول ۸). ژنوتیپ‌های GA۱۸، GA۴ و GA۲۴ بیشترین قطر شاخه و ژنوتیپ‌های GA۱۶، GA۷، GA۲۸ و GA۲ کمترین قطر شاخه را داشت. بیشترین نسبت ارتفاع به طول تاج‌پوشش درخت در ژنوتیپ‌های GA۲۶ و GA۳۶ و کمترین نسبت ارتفاع به طول تاج‌پوشش درخت در ژنوتیپ GA۵ مشاهده شد (جدول ۴). نسبت طول به عرض تاج‌پوشش درخت همبستگی مثبت و معنی داری با نسبت ارتفاع به طول تاج‌پوشش درخت ($r=0/8$) دارد (جدول ۸).

صفات خشک‌میوه و مغز

نتایج تجزیه واریانس بیانگر وجود تفاوت معنی دار بین صفات خشک‌میوه و مغز مورد بررسی در ارقام و ژنوتیپ‌های امیدبخش پیوند شده روی پایه GN است (جدول ۵). این تفاوت‌ها نشان‌دهنده تنوع در صفات مورد بررسی است و امکان انتخاب ارقام برای مقادیر مختلف یک صفت وجود دارد. این صفات در مراحل بعد مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند (جدول ۵).

نتایج مقایسه میانگین بیانگر وجود تفاوت معنی دار بین صفات خشک‌میوه و مغز مورد بررسی در ارقام و ژنوتیپ‌های امیدبخش پیوند شده روی پایه GN است. برخی خصوصیات ویژه ارقام و ژنوتیپ‌های امیدبخش براساس مقایسه میانگین‌ها به شرح زیر است: بیشترین طول، عرض، قطر و وزن خشک‌میوه در ژنوتیپ شماره GA۳۵ و کمترین طول، عرض، قطر و وزن خشک‌میوه به ترتیب در ژنوتیپ‌های GA۲ و GA۱ مشاهده شد (جدول ۶). قطر خشک‌میوه همبستگی مثبت و معنی داری با وزن خشک‌میوه، طول و قطر مغز ($r=0/7$) داشت و وزن خشک‌میوه همبستگی مثبت و معنی داری با وزن مغز، طول مغز و ضخامت پوسته چوبی ($r=0/8$) داشت (جدول ۸).

براساس نتایج مقایسه میانگین، بیشترین وزن، طول و عرض مغز در ژنوتیپ GA۳۵ و کمترین وزن، طول و عرض مغز در ژنوتیپ GA۱۱ مشاهده شد. همچنین بیشترین قطر مغز و ضخامت پوسته چوبی در ژنوتیپ GA۲۴ و کمترین قطر مغز و ضخامت پوسته چوبی به ترتیب در ژنوتیپ‌های GA۱ و GA۱۲ و در ژنوتیپ GA۱۲ مشاهده گردید (جدول ۶). وزن مغز همبستگی مثبت و معنی داری با طول مغز

جدول ۲- صفات، علامت اختصاری، واحد و روش اندازه‌گیری در ارقام و ژنوتیپ‌های بادام مورد بررسی

Table 2- Traits, abbreviation, unit and measurement method in investigated varieties and genotypes of almond

شماره Number	صفت Attribute	علامت اختصاری Abbreviation	واحد Unit	روش اندازه‌گیری Measurement method
1	ارتفاع درخت Tree height	TH	cm	متر Meter
2	طول تاج‌پوشش درخت Canopy length	CL	cm	متر Meter
3	عرض تاج‌پوشش درخت Canopy width	CW	cm	متر Meter
4	قطر پایه Rootstock diameter	RD	mm	کولیس Calliper
5	قطر پیوندک Scion diameter	SD	mm	کولیس Calliper
6	طول شاخه Branch length	BL	cm	متر Meter
7	قطر شاخه Branch diameter	BD	mm	کولیس Calliper
8	نسبت طول به عرض تاج‌پوشش درخت Canopy length/crown width ratio	CL/CW		طول تاج‌پوشش درخت به عرض تاج‌پوشش درخت Canopy length/canopy width
9	نسبت ارتفاع به طول تاج‌پوشش درخت Tree height/canopy length ratio	TH/CL		ارتفاع درخت به طول تاج‌پوشش درخت Tree height/canopy length
10	طول خشک‌میوه Nut length	NL	mm	کولیس Calliper
11	عرض خشک‌میوه Nut width	NW	mm	کولیس Calliper
12	ضخامت خشک‌میوه Nut thickness	NTH	mm	کولیس Calliper
13	وزن خشک‌میوه Nut weight	NWT	g	ترازوی دیجیتال Digital scale
14	وزن مغز Kernel weight	KWT	g	ترازوی دیجیتال Digital scale
15	طول مغز Kernel length	KL	mm	کولیس Calliper
16	عرض مغز Kernel width	KW	mm	کولیس Calliper
17	ضخامت مغز Kernel thickness	KTH	mm	کولیس Calliper
18	نسبت عرض به طول خشک‌میوه (NR1) Nut width/nut length ratio	NW/NL		عرض خشک‌میوه به طول خشک‌میوه Nut width/nut length
19	نسبت ضخامت به طول خشک‌میوه (NR2) Nut thickness/nut length ratio	NTH/NL		ضخامت خشک‌میوه به طول خشک‌میوه Nut thickness/nut length
20	نسبت ضخامت به عرض خشک‌میوه (NR3) Nut thickness/nut width ratio	NTH/NW		ضخامت خشک‌میوه به عرض خشک‌میوه Nut thickness/nut width
21	ضخامت پوسته چوبی Shell thickness	STH	mm	کولیس Calliper
22	دوقلوایی Double kernel	DK	code	۱= فاقد دوقلوایی، ۳= کم، ۵= متوسط، ۷= زیاد، ۹= خیلی زیاد 1= no double kernel, 3= little, 5= moderate, 7= high, 9= very high
23	درصد پوکی Percentage of blank kernel	PBK	%	تعداد مغزهای پوک در نمونه صدتایی The number of blank kernel in a 100 kernels

ادامه جدول ۲- صفات، علامت اختصاری، واحد و روش اندازه گیری در ارقام و ژنوتیپ های بادام مورد بررسی

Continued Table 2- Traits, abbreviation, unit and measurement method in investigated varieties and genotypes of almond

شماره Number	صفت Attribute	علامت اختصاری Abbreviation	واحد Unit	روش اندازه گیری Measurement method
24	رنگ مغز Kernel color	KCI	code	۱=خیلی روشن، ۳=روشن، ۵=متوسط، ۷=تیره، ۹=خیلی تیره 1=very light, 3=light, 5=medium, 7=dark, 9=very dark ۱=فاقد چروکیدگی، ۳=چروکیدگی کم، ۵=چروکیدگی متوسط، ۷=
25	چروکیدگی مغز Shrinkage of kernel	SK	code	چروکیدگی زیاد 1=no shrinkage, 3 = slightly wrinkled, 5 = Intermediate, 7 = wrinkled
26	سختی پوست چوبی Shell hardness	SH	code	۱=خیلی سخت، ۳=سخت، ۵=نیمه سخت، ۷=نازک، ۹=کاغذی 1=very hard, 3=hard, 5=semi-hard, 7=thin, 9=papery ۱=بسته، ۳=نیمه باز، ۵=باز
27	درز و شکاف روی پوست Suture opening of the shell	SOS	code	1= Excellent seal (no openings), 3= Open (about 2 mm), 5= very wide
28	درصد مغز Percentage of kernel	PK	%	وزن صد عدد مغز به صد عدد خشک میوه Weight of 100 kernels /weight of 100 nuts
29	نسبت عرض به طول مغز (KR1) Kernel width/kernel length ratio	KW/KL		عرض مغز به طول مغز Kernel width/kernel length
30	نسبت ضخامت به طول مغز (KR2) Kernel thickness/kernel length ratio	KTH/KL		ضخامت مغز به طول مغز Kernel thickness/kernel length
31	نسبت ضخامت به عرض مغز (KR3) Thickness/kernel width ratio kernel	KTH/KW		ضخامت مغز به عرض مغز kernel thickness/kernel width
32	نسبت وزن مغز به وزن خشک میوه (KNR) Kernel weight/nut weight ratio	KWT/NWT		وزن مغز به وزن خشک میوه Kernel weight/nut weight
33	عملکرد Yeild		g	میانگین وزن خشک محصول هر واحد آزمایشی
34	عادت باردهی Location of flower buds		code	۱=بیشتر روی شاخه یک ساله (تیپ شاخه)، ۲=بیشتر روی اسپور (تیپ اسپور)، ۳=روی شاخه و اسپور (تیپ مختلط) 1=most flower buds on one year old shoots, 2=most flower buds on spurs, 3=mixed ۱=خیلی زود، ۲=خیلی زود تا زود، ۳=زود، ۴=زود تا متوسط، ۵=متوسط، ۶=متوسط تا دیر، ۷=دیر، ۸=دیر تا خیلی دیر، ۹=خیلی دیر
35	زمان آغاز گل دهی Season of flowering		code	۱=خیلی زود، ۲=خیلی زود تا زود، ۳=زود، ۴=زود تا متوسط، ۵=متوسط، ۶=متوسط تا دیر، ۷=دیر، ۸=دیر تا خیلی دیر، ۹=خیلی دیر 1=extremely early, 2=very early, 3=early, 4=early/intermediate, 5=intermediate, 6=intermediate/late, 7=late, 8= very late, 9=extremely late
36	زمان رسیدن میوه Harvest maturity		code	۱=خیلی زود، ۳=زود، ۵=متوسط، ۷=دیر، ۹=خیلی دیر 1=extremely early, 3=early, 5= medium, 7=late, 9=extremely late

براساس نتایج، میزان عملکرد در ژنوتیپ های مختلف به طور معنی داری متفاوت است. بیشترین میزان عملکرد در ژنوتیپ های GA۲۰، GA۱۶، GA۲۶، GA۱۰، GA۳۱، GA۱۴، GA۲۲، GA۲۳، GA۲۵، GA۱۹، GA۳۳، GA۲۷، GA۲۴ و GA۲۹ و کمترین عملکرد در ژنوتیپ های GA۳۲، GA۳۰ و GA۷ مشاهده شد. تاریخ گل دهی در ارقام و ژنوتیپ های مورد مطالعه تفاوت معنی دار داشت و از متوسط گل تا بیش از حد دیرگل متفاوت بود (جدول ۷). ارقام و ژنوتیپ های GA۲۹، GA۳۰ و GA۳۳ از نظر زمان

بیشترین نسبت عرض به طول خشک میوه در ژنوتیپ های GA۱۲ و GA۲۷ و کمترین میزان در ژنوتیپ GA۳۶ مشاهده شد. نسبت عرض به طول خشک میوه همبستگی مثبت و معنی داری با نسبت ضخامت به عرض خشک میوه ($r=0.7$) داشت (جدول ۸). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که بیشترین نسبت ضخامت به طول و عرض خشک میوه در ژنوتیپ GA۲۷ و کمترین نسبت در ژنوتیپ GA۳۶ مشاهده شد (جدول ۹).

گل‌دهی متوسط، ارقام و ژنوتیپ‌های GA۲۴ و GA۳۶ نسبتاً دیرگل، ارقام و ژنوتیپ‌های GA۱، GA۳۴، GA۵، GA۲۷، GA۱۹، GA۲۳، GA۱۴، GA۳۱، GA۲۶ و GA۲۰ خیلی دیرگل و ژنوتیپ‌های GA۲۸، GA۸، GA۲۵ و GA۷ بیش از حد دیرگل بودند. عادت گل‌دهی (باردهی) در ارقام و ژنوتیپ‌های مختلف تفاوت معنی‌دار داشت (جدول ۷). ارقام و ژنوتیپ‌های GA۲۹، GA۳۳، GA۳۰، GA۲ و GA۳۴ گل‌دهی روی شاخه یک‌ساله، ارقام و ژنوتیپ‌های GA۲۴، GA۳، GA۹، GA۱۲، GA۲۱، GA۱۸، GA۱۹، GA۲۳، GA۱۴، GA۲۰ و GA۲۵ گل‌دهی بیشتر روی اسپور و گل‌دهی سایر ارقام و ژنوتیپ‌ها به‌صورت مختلط بود. زمان برداشت در ارقام و ژنوتیپ‌های مختلف از زود تا خیلی دیر متفاوت بود. ارقام و ژنوتیپ‌های GA۲۹، GA۳۳ و GA۲۴ زودرس، ارقام و ژنوتیپ‌های GA۳۰، GA۲۱، GA۳۶، GA۱۳، GA۱۱، GA۶، GA۴، GA۳۵، GA۲۲، GA۱۰، GA۱۶، GA۲۷ و GA۲۸ از نظر زمان رسیدن متوسط و ارقام و ژنوتیپ‌های GA۲۰، GA۲۵ و GA۱۵ خیلی دیررس بودند. سایر ارقام و ژنوتیپ‌ها دیررس بودند (جدول ۷).

بحث

یکی از روش‌های به‌نژادی بادام و دستیابی به ارقام جدید، انتخاب ژنوتیپ‌های امیدبخش و ارزیابی تکمیلی آن‌ها در کنار ارقام تجاری است، که ضمن حفظ ذخائر توارثی و ژرم‌پلاس، می‌توان به ارقام جدید با صفات مطلوب دست پیدا کرد. در این پژوهش، ۳۶ ژنوتیپ امیدبخش بادام روی پایه GN۱۵ (سازگار با تغییرات آب در دسترس) (Ranjbar & Imani, 2022)، پیوند زده شد و صفات رویشی و مشخصات خشک‌میوه و مغز درختان جوان حاصل، در سال اول باردهی جهت انتخاب ژنوتیپ برتر اندازه‌گیری شد. براساس نتایج حاصل از اندازه‌گیری صفات رویشی، قطر پایه و پیوندک و طول شاخه یک‌ساله در ارقام و ژنوتیپ‌های مورد بررسی، قدرت رشد پایه رویشی GN قابل توجه بود. افزایش شاخص‌های رشد، افزایش جذب و غلظت عناصر غذایی پر مصرف و کم‌مصرف در پایه‌های GN قبلاً بیان شده و مؤید این مطلب است (Safavi et al., 2023). براساس نتایج مقایسه میانگین صفات رویشی، بیشترین ارتفاع در ژنوتیپ‌های GA۴، GA۳ و GA۳۵ بیشترین عرض تاج‌پوشش درخت در ژنوتیپ‌های GA۵، GA۱۷ و GA۳ و بیشترین قطر پایه و پیوندک در ژنوتیپ‌های GA۲۰، GA۱۵ و GA۵ و بیشترین طول و قطر شاخه یک‌ساله در ژنوتیپ GA۱۸ مشاهده شد. رشد طولی گیاهان از تقسیم و طول‌شدن سلول‌ها در اثر فعالیت مریستم انتهایی و رشد قطری در نتیجه فعالیت مریستم جانبی می‌باشد، بنابراین افزایش ارتفاع و رشد طولی در نتیجه افزایش فعالیت مریستم انتهایی رخ می‌دهد. ارتفاع گیاه به‌شدت به محیط رشد بستگی دارد. پدیده رشد حاصل فعالیت-

های حیاتی در شرایطی است که گیاه باید آب کافی در اختیار داشته باشد، افزایش تورژسانس سلول‌های در حال رشد در اثر جذب آب منجر به طول‌شدن سلول‌ها شده و افزایش ارتفاع رخ می‌دهد (Taiz & Zeiger, 2010). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که ارقام و ژنوتیپ‌های مورد بررسی از نظر کلیه صفات خشک‌میوه و مغز دارای تفاوت معنی‌دار هستند که بیانگر این است که این ارقام و ژنوتیپ‌ها به‌عنوان منبع ژرم‌پلاس خوب برای برنامه‌های به‌نژادی در نظر گرفته شود. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که ژنوتیپ ۳۵ پیوند شده روی پایه GN۱۵ بیشترین طول، عرض و قطر خشک‌میوه، بیشترین وزن خشک و وزن مغز، رنگ مغز روشن، مغز بدون چروکیدگی و بیشترین درصد مغز و بیشترین نسبت وزن مغز به‌وزن خشک‌میوه را دارا بود. براساس مطالعه حاضر، بیشترین عملکرد در ارقام و ژنوتیپ‌های GA۲۰، GA۱۶ و GA۲۶ مشاهده شد. از نظر صفت دوقلویی در اکثر ارقام میزان کمی مشاهده شد. میزان دوقلویی در ارقام و ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از صفر تا زیاد متغیر بود. لقاح دو تخمک در تخمدان بادام و سپس رشد هر دو تخمک باعث پدیده دوقلویی در بادام می‌شود. دوقلویی یک صفت منفی است که باعث تغییر شکل مغزها و کاهش ارزش تجاری بادام می‌شود، علاوه‌براین کیفیت محصول و بازاریابی بسته به درصد دوقلویی کاهش می‌یابد (Janick & Moore, 1996). وقوع این پدیده به‌شدت تحت تأثیر عوامل محیطی به‌ویژه دمای پایین در مرحله قبل از گل‌دهی گزارش شده است (Artega & Sociasi Company, 2001). یک برنامه تلقیح متعادل و کشت ژنوتیپ‌های مناسب در مناطق معتدل می‌تواند این مشکل را کاهش دهد (Gouta et al., 2019). سفتی پوست در ژنوتیپ‌های مورد بررسی از پوست سخت تا پوست کاغذی متغیر بود. پوسته یکی از مهم‌ترین اهداف برنامه‌های پرورش بادام است. گزارش شده است که ژنوتیپ‌های پوسته سخت نسبت به حشرات و آلودگی‌های قارچی مقاوم‌تر هستند، درحالی‌که ژنوتیپ‌های پوسته نرم به‌شدت مستعد آسیب‌های ناشی از این عوامل هستند (Gradziel & Martínez, 2015; Gómez, 2002; Khadivi-Khub & Etemadi-Khah, 2015). بر این اساس، برنامه‌های اصلاحی به ژنوتیپ مورد استفاده بستگی دارد، به‌طوری‌که در مورد ژنوتیپ‌های پوسته نرم، باید منابع مقاوم در برابر حشرات و قارچ‌ها را یافت (Khadivi et al., 2022).

جدول ۳- تجزیه واریانس صفات رویشی ۲۶ رقم و ژنوتیپ امیدبخش بادام پیوند شده روی پایه GN در سال اول
Table 3- ANOVA for the vegetative traits of 36 promising almond cultivars and genotypes grafted on GN rootstock in the first year

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean squares								
		ارتفاع درخت Tree height	طول تاج پوشش درخت Canopy length	عرض تاج پوشش درخت Crown width	قطر پایه Rootstock diameter	قطر پیوندی Scion diameter	طول شاخه Branch length	قطر شاخه Branch diameter	نسبت طول به عرض تاج پوشش درخت Canopy length/canopy width	نسبت ارتفاع به طول تاج پوشش درخت Tree height/canopy length
بلوک Block	2	306.69	1668.59	1174.36	8.129	7.936	55.067	0.212	0.0106	0.086
ژنوتیپ Genotype	35	2253.93**	1306.19 ^{ns}	1275.15**	151.33**	138.05**	748.95**	3.733**	0.0261 ^{ns}	0.96 **
خطا Error	70	822.94	934.49	881.97	40.422	41.365	60.24	0.369	0.022	0.048
ضریب تغییرات CV (%)		14.73	18.64	19.49	12.28	12.51	14.44	8.12	13.69	18.07

^{ns}, **, * و °: پدترتیب عدم معنی داری، و معنی داری در سطح احتمال یک و پنج درصد.
^{ns}, **, * and °: non-significant, and significant at $P \leq 0.01$ and $P \leq 0.05$, respectively

جدول ۴- صفات رویشی ۳۶ رقم و ژنوتیپ امیدبخش بادام پیوند شده روی پایه GN15
Table 4-The vegetative traits of 36 promising almond cultivars and genotypes grafted on GN15 rootstock

ژنوتیپ‌ها Genotypes	ارتفاع درخت Tree height (cm)	عرض تاج پوشش درخت Canopy width (cm)	قطر پایه Rootstock diameter (mm)	قطر پیوندک Scion diameter (mm)	طول شاخه Branch length (cm)	قطر شاخه Branch diameter (mm)	نسبت ارتفاع به طول تاج پوشش درخت Tree height/canopy length
GA1	215.67 a-e*	167a-e	59.17 a-d	54.73 a-f	44.17f-j	7.2 e-i	1.29 a-f
GA 2	171d-f	159.33a-f	53.1 a-h	48.1 b-g	41.3g-k	6.23 i-l	0.91 fg
GA 3	252ab	183.67a-c	58.2 a-d	56.93 a-d	49.1e-i	6.9 f-j	1.42 a-e
GA 4	260.33 a	169.33a-e	53.13 a-h	50.47 a-g	76.37ab	9.4 ab	1.36 a-e
GA 5	169.33 d-f	202a	60.53 a-c	59.83 a-c	64.53b-d	6j-l	0.81 g
GA 6	161ef	155.67a-f	50.8 b-i	56.2 a-e	41.97g-k	7.47 d-h	0.99 d-g
GA 7	201b-e	170.67a-e	51.57 a-h	48.5 b-g	19.2l	5.17 l	1.11 b-g
GA8	198.67 b-e	156.67a-f	57a-f	52.5 a-g	77.47ab	8.53 b-d	1.22 a-g
GA 9	158.33 ef	156.33a-f	46.77 d-j	53.1 a-g	49.2e-i	8.03 c-f	0.97 e-g
GA 10	203.33 b-e	144a-f	55.8 a-g	55.2 a-f	53.3d-g	8.07 c-f	1.31 a-f
GA 11	172.33 d-f	120.33d-f	36.07 j	32.87 h	28.03kl	6.57 g-k	1.41 a-e
GA 12	178.67 c-f	158.33a-f	44.43 f-j	43.9 e-h	72.3a-c	8.47 b-d	1.35 a-f
GA 13	183c-f	146.33a-f	41.67 h-j	43.6 e-h	43.37g-j	6.97 f-j	1.21 a-g
GA 14	198.33 b-e	153.33a-f	49.7 b-i	52.5 a-g	52.4d-h	7.2 e-i	1.11 b-g
GA 15	203.67 b-e	134.67b-f	62ab	60.7 ab	75.6ab	8.77 a-c	1.35 a-f
GA 16	179c-f	146.67a-f	48.17 c-j	48.93 b-g	43.93f-j	5.13 l	1.15 a-g
GA 17	224.67 a-d	190ab	58.97 a-d	54.13 a-f	58.73c-f	7.23 e-i	1.12 b-g
GA 18	187c-f	157a-f	44.57 f-j	43.1 f-h	80.93a	9.83 a	1.04 c-g
GA 19	225a-d	153a-f	51.37 a-i	55.9 a-f	51.7d-i	7.47 d-h	1.34 a-f
GA 20	188.67 c-f	148.33a-f	64.07 a	62.87 a	42.5g-k	6.37 h-k	1.16 a-g
GA 21	168.33 d-f	147a-f	53.27 a-h	51.57 a-g	68.5a-c	8.43 b-d	1.15 a-g
GA 22	189c-f	143.67a-f	45.73 f-j	46.3 d-g	66.07a-d	7.63 c-g	1.14 b-g
GA 23	202b-e	179a-d	50.07 b-i	52.6 a-g	49.47e-i	6.87 f-j	1.18 a-g
GA 24	210.33 a-e	127.67c-f	43.6 g-j	46.87 c-g	70.37a-c	9.23 ab	1.41 a-e
GA 25	197.33 b-e	138.33b-f	47.93 c-j	48.33 b-g	75.7ab	8.77 a-c	1.42 a-d
GA 26	231.67 a-c	137.33b-f	44.5 f-j	46.53 d-g	65.6b-d	8.37 b-e	1.6 a
GA 27	183.33 c-f	146.67a-f	41.53 h-j	40.43 gh	60.57c-e	7.47 d-h	1.16 a-g
GA28	191.67 c-e	178.33a-d	54.47 a-g	54.77 a-f	37.67h-k	5.7 kl	0.97 e-g
GA29	187.67 c-f	164.67a-e	46.1 f-j	43.1 f-h	47.97e-i	7.63 c-g	1.18 a-g
GA 30	134.33 f	115.67ef	58.97 a-d	58.73 a-d	44.23f-j	7.47 d-h	0.99 d-g
GA 31	183.67 c-f	130.33b-f	58.2 a-d	58.73 a-d	77.03ab	8.6 b-d	1.18 a-g
GA 32	178c-f	104.33f	38.93 ij	40.43 gh	54d-g	7.17 e-j	1.35 a-e
GA 33	158.33 ef	128.33c-f	60.07 a-c	57.03 a-d	36.67i-k	7.43 d-h	1.16 a-g
GA 34	206a-e	151.67a-f	58.17 a-d	59.2 a-d	42.53g-k	7.93 c-f	1.44 a-c
GA 35	251ab	162.67a-f	57.03 a-f	58.33 a-d	31.4j-l	6.6 g-k	1.34 a-f
GA 36	203.33 b-e	154.67a-f	56.73 a-f	53.27 a-g	40.8g-k	7.17 e-j	1.49 ab

* در هرستون، میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، در سطح احتمال پنج درصد با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری ندارند.

* Mean values with similar letters in each column are not significantly different at 5% of probability level using Duncan's multiple range test.

جدول ۵- تجزیه واریانس صفات خشک میوه و مغز ۳۶ رقم و ژنوتیپ امید بخش بادام پیوند شده روی پایه GNI15
Table 5- ANOVA for the nut and kernel traits of 36 promising almond cultivars and genotypes grafted on GNI15 rootstock

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean squares													
		طول Nut length	خشک میوه Nut width	عرض Nut width	قطر Nut thickness	خشک میوه Nut thickness	وزن Nut weight	مغز Kernel weight	طول مغز Kernel length	عرض مغز Kernel width	قطر مغز Kernel thickness	ضخامت پوسته چوبی Shell thickness	دوقلویی Double kernel	درصد پوکی Percentage of blank kernel	رنگ مغز Kernel color
بلوک Block	2	1.1872	2.282*	2.282*	1.727**	1.727**	0.634**	0.211**	5.856	0.543	0.223**	0.244**	0.009 ^{ns}	0.148	2.033
ژنوتیپ Genotype	35	69.952**	32.262**	32.262**	9.541**	9.541**	5.673**	1.489**	46.658**	11.276**	4.897**	1.863**	0.333**	1.933**	13.44**
خطا Error	70	0.519	0.4657	0.4657	0.288	0.288	0.105	0.0215	4.601	0.266	0.0425	0.0310	0.0187	0.0624	2.01
ضریب تغییرات CV (%)		2.16	3.34	3.34	3.98	3.98	11.79	14.67	9.24	4.19	3.36	5.48	1.003	5.56	5.66

^{ns}, **, and * : به ترتیب عدم معنی دار، و معنی دار در سطح احتمال یک و پنج درصد.
^{ns}, **, and * : non-significant, and significant at $P \leq 0.01$ and $P \leq 0.05$, respectively

ادامه جدول ۵- تجزیه واریانس صفات خشکمیوه و مغز ۳۶ رقم و ژنوتیپ امیدبخش بادام روی پایه GNL5
Continued Table 5- ANOVA for the nut and kernel traits of 36 promising almond cultivars and genotypes grafted on GNL5 rootstock

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean squares									
		چروکیدگی مغز Shrinkage of kernel	سفتی پوست Shell hardness	درز و شکاف پوست Suture opening of the shell	درصد مغز Percentage of kernel	نسبت عرض به طول مغز Kernel width/length	نسبت ضخامت به طول مغز Kernel thickness/length	نسبت عرض مغز به وزن خشکمیوه Kernel weight	نسبت عرض به طول خشکمیوه Nut width/length	نسبت ضخامت به طول خشکمیوه Nut thickness/length	نسبت ضخامت به عرض خشکمیوه Nut thickness/nut width
بلوک Block	2	0.037	0.064	0.098	1.758	0.204**	0.205**	0.184**	0.203**	0.204**	0.202**
ژنوتیپ Genotype	35	1.476**	18.77**	10.971**	355.83**	0.033**	0.038**	0.063**	0.026**	0.026**	0.031**
خطا Error	70	0.017	0.093	0.028	14.93	0.009	0.0091	0.011	0.009	0.009	0.009
ضریب تغییرات CV (%)		3.17	4.2	6.3	10.8	15.53	26.5	23.6	13.6	19.3	12.8

ns، ** و ***: به ترتیب عدم معنی دار، و معنی دار در سطح احتمال یک و پنج درصد.
ns، ** and ***: non-significant, and significant at $P \leq 0.01$ and $P \leq 0.05$, respectively

جدول ۶- صفات خشکمیوه و مغز ۳۶ رقم و ژنوتیپ امیدبخش بادام روی پایه GNI15
Table 6- The nuts and kernels traits of 36 promising almond cultivars and genotypes grafted on GNI15

ژنوتیپ‌ها Genotypes	طول Nut length (mm)	عرض Nut width (mm)	قطر خشکمیوه Nut thickness (mm)	وزن Nutweight (g)	وزن مغز Kernel weight (g)	طول مغز Kernel length (mm)	عرض مغز Kernel width (mm)	قطر مغز Kernel thickness (mm)	ضخامت پوسته Shell thickness (mm)	دوگلابی Double kernel (code)	پوکی Percentage of blank kernel (%)	رنگ مغز Kernel color (code)
GA1	27.8 n*	14.3 p	9.9 o	0.730 n	0.4 m	15.9 no	9.4 s	3.9 p	2.9 k-m	3a	4a	5b
GA2	23.8 p	15.9 o	12.93 ij	1.36 k-m	0.6 k-m	18.2 n	10.8 m-q	6.9 bc	2.8 lm	3a	4a	1c
GA3	41.6 b	24.4 c	14.25 e-g	4.75 bc	1.4 bc	27b-e	15a-c	6.2 e-h	3.4 g-i	3a	2b	5b
GA4	40.5 bc	23.2 c-e	15.95 bc	4.21 c	1.2 cd	26.7 b-e	13.9 de	6.4 de	3.9 cd	3a	4a	1c
GA5	25o	16.4 no	12.13 j-l	1.24 l-n	0.7 h-l	19.6 j-n	10.2 o-s	4.4 o	3.2 g-j	3a	4a	5b
GA6	34.6 hi	16.5 no	11.42 l-n	2.33 g-i	0.7 j-m	22.9 e-k	11.1 k-o	5.5 kl	2.6 m-o	3a	4a	5b
GA7	35.1 gh	19jk	13h-j	2.67 e-h	0.9 d-j	25.6 c-h	11.8 h-l	6.1 e-h	2.9 k-m	3a	2b	5b
GA8	33.6 ij	22.8 d-f	15.39 cd	4.17 c	1.1 d-f	24.3 d-i	14.6 b-d	6.6 cd	3.8 de	3a	4a	1c
GA9	32.6 jk	18.9 jk	10.98 mn	1.51 j-m	0.9 e-k	22.9 e-k	12.2 g-j	6g-j	2.3 op	3a	4a	5b
GA10	36.2 fg	26.1 b	16.40 b	5.22 b	1.2 cd	24.5 d-i	15.4 ab	7.2 b	4.1 c	3a	4a	5b
GA11	30.7 lm	16.7 no	10.47 no	1.02 mn	0.4 m	12.6 o	7.2 t	4.6 no	3.8 de	3a	4a	1c
GA12	25.2 o	17.4 mn	11.8 k-m	1.27 l-n	0.8 h-l	18.9 k-n	12.8 f-h	6.9 bc	1.8 r	3a	4a	5b
GA13	28n	15.5 o	10.75 no	1.66 j-l	0.7 h-l	20.8 i-l	9.9 q-s	5.4 kl	2.8 lm	3a	2b	5b
GA14	32.6 ik	18.7 i-l	12.66 i-k	2.78 d-g	0.8 e-k	23.6 d-j	11.7 i-m	5mn	3.3 g-j	3a	4a	1a
GA15	33.1 j	23.6 cd	13.98 f-h	2.09 h-j	0.9 d-j	21.7 g-l	12.7 f-i	6.6 cd	3.3 g-j	3a	4a	1c
GA16	30.6 lm	21.3 gh	15.16 c-e	2.92 d-g	1d-i	22.8 e-k	13.3 ef	7.1 b	3.5 e-g	3a	4a	1c
GA17	35.3 gh	21.1 gh	13.16 hi	2.90 -g	0.9 d-j	24.2 d-i	13.2 ef	6.4 d-f	3.2 h-k	3a	2b	5b
GA18	34.6 hi	22.7 d-f	15.7 bc	4.18 c	1.1 d-g	25.3 c-h	14.2 cd	6f-j	4.1 c	3a	4a	5b
GA19	30.6 lm	21.7 fg	13.47 g-i	2.56 e-h	0.8 g-l	21.5 h-l	14.4 cd	6.1 e-i	3i-l	3a	4a	1c
GA20	32.9 j	23.6 cd	14.2 d-f	3.08 de	1d-i	22.5 g-l	14.7 b-d	6.2 e-h	2.7 l-n	3a	4a	5b
GA21	37.3 ef	21.6 fg	13.41 g-i	1.9 i-k	0.9 e-k	25.9 c-g	12.2 g-i	5.7 ik	2.1 pq	3a	4a	5b
GA22	31lm	20.3 hi	14f-h	2.4 f-i	0.5 lm	18.6 ln	10.9 l-p	6.4 d-h	2qr	3a	2b	7a
GA23	26.8 n	16.7 no	11.2 l-n	1.6 j-m	0.7 i-l	19.7 j-n	10p-s	6.3 d-h	2.4 o	3a	4a	1c
GA24	30.2 m	21.3 gh	14.6 d-f	1.8 i-l	1d-h	20.8 i-l	12.2 g-j	12.2 a	5.8 a	3a	4a	5b
GA25	32.8 ik	22fg	13.4 g-i	3de	0.8 f-k	22.6 g-l	12.9 fg	6.4 d-f	3.4 gh	3a	4a	1c
GA26	35gh	23.2 c-e	15.1 c-e	3.3 d	0.8 e-k	32.2 a	12.3 g-i	5.3 lm	3.7 d-f	1b	4a	1c
GA27	27.7 n	18.7 j-l	14.3 e-g	2.1 h-j	0.8 h-l	19.3 k-n	12.1 g-k	6.4 de	2.8 lm	3a	4a	5b
GA28	31.6 kl	17.5 l-n	12.7 i-k	2.3 g-i	1d-i	24.1 d-i	11.3 j-n	6h-j	2.8 lm	3a	4a	5b
GA29	39.9 c	19.5 ij	12.5 i-k	2i-k	1d-i	26.5 b-e	11.9 g-k	5.8 i-k	2.5 no	3a	4a	1c
GA30	33.5 ij	18k-m	11.8 k-m	1.9 i-k	0.7 i-l	21.9 g-l	10.5 n-r	5.1 lm	3j-l	3a	2b	5b
GA31	35.4 gh	17.4 mn	12.5 i-k	3d-f	0.9 e-k	25.3 c-h	9.7 rs	5.3 lm	2.7 l-n	3a	4a	5b
GA32	35.2 gh	23.7 cd	14.3 e-g	3.4 d	1.1 de	25.9 c-g	14.3 cd	6.4 de	3.5 e-h	3a	2b	5b
GA33	33.1 j	18.7 i-l	14.3 e-g	3.4 d	1d-j	24.1 d-i	12.1 g-i	6.4 d-g	3.9 cd	3a	4a	5b
GA34	39.4 cd	23.9 cd	14.2 e-g	4.3 c	1.5 b	29.3 a-c	14.8 b-d	6.6 cd	3.5 e-h	3a	4a	1c
GA35	45.4 a	28.2 a	17.9 a	7.7 a	4.9 a	30.1 ab	15.8 a	5.3 lm	4.9 b	3a	4a	1c
GA36	38.4 de	22-e-g	14.5 d-f	2.7 e-h	0.9 e-k	27.3 b-d	12.1 g-k	5.7 i-k	3.4 f-h	3a	4a	1c

* در هر ستون، میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، در سطح احتمال پنج درصد با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری ندارند.
* Mean values with similar letters in each column are not significantly different at 5% of probability level using Duncan's multiple range test.

ادامه جدول ۶- صفات خشکمیوه و مغز ۳۶ رقم و ژنوتیپ امیدبخش بادام پیوند شده روی پایه GNI15

Continued Table 6- The nuts and kernels traits of 36 promising almond cultivars and genotypes grafted on GNI15

ژنوتیپها Genotypes	چروکیدگی Shrinkage kernel of (code)	سفتی پوست Shell hardness (code)	روزی پوست Suture opening of the shell (code)	درصد مغز Percentage of kernel (%)	نسبت عرض Kernel width/kern el length	به طول مغز Kernel thickness/ker nel length	نسبت ضخامت Kernel thickness/ kernel width	به عرض مغز Kernel width	نسبت وزن مغز به وزن خشکمیوه weight/nut weight	نسبت عرض به طول Nut width/ nut length	نسبت ضخامت به طول خشکمیوه thickness/nut length	نسبت ضخامت به عرض خشکمیوه thickness/nut width
GA1	5a*	9a	5a	52.7 b	0.69 a-c	0.34 c-i	0.51 f-k	0.63 a-d	0.61 d-i	0.45 d-g	0.79 a-i	0.79 a-i
GA 2	3b	7b	5a	40.1 cd	0.71 a-c	0.49 b-d	0.75 bc	0.23 i	0.79 a-e	0.66 ab	0.93 ab	0.93 ab
GA 3	3b	5c	1b	27.9 g-j	0.67 a-c	0.35 c-i	0.53 e-k	0.52 b-i	0.7 a-g	0.46 c-g	0.7 e-k	0.7 e-k
GA 4	5a	5c	5a	27.5 g-j	0.59 c-e	0.31 d-i	0.53 e-k	0.4 f-l	0.64 c-i	0.46 c-g	0.75 b-k	0.75 b-k
GA 5	3b	9a	5a	55.8 b	0.6 c-e	0.3 d-i	0.51 f-k	0.34 g-l	0.73 a-f	0.56 a-e	0.82 a-h	0.82 a-h
GA 6	5a	7b	5a	26.8 g-j	0.54 c-f	0.29 e-j	0.54 e-k	0.64 a-d	0.53 g-i	0.38 e-g	0.74 b-k	0.74 b-k
GA 7	3b	9a	1b	32.8 d-h	0.56 c-f	0.34 c-i	0.62 b-i	0.32 h-l	0.64 c-i	0.47 b-g	0.78 a-j	0.78 a-j
GA 8	3b	3d	1b	24.4 j	0.7 a-c	0.37 b-i	0.55 d-k	0.43 d-l	0.78 a-e	0.56 a-e	0.77 a-j	0.77 a-j
GA 9	3b	9a	5a	53.1 b	0.69 a-c	0.42 b-f	0.64 b-h	0.34 g-l	0.74 a-f	0.49 b-f	0.73 c-k	0.73 c-k
GA 10	3b	3d	1b	23.4 j	0.63 b-d	0.3 d-i	0.47 h-k	0.69 a-c	0.72 a-g	0.45 d-g	0.63 h-k	0.63 h-k
GA 11	3b	9a	5a	33.5 d-h	0.69 a-c	0.48 b-e	0.76 bc	0.45 d-k	0.66 b-i	0.46 c-g	0.74 b-k	0.74 b-k
GA 12	3b	9a	5a	54.1 b	0.85 a	0.54 b	0.71 b-e	0.72 ab	0.87 a	0.65 a-c	0.86 a-f	0.86 a-f
GA 13	3b	3d	1b	39.7 c-e	0.59 c-e	0.38 b-h	0.66 b-h	0.52 b-i	0.67 b-h	0.5 b-f	0.81 a-i	0.81 a-i
GA 14	3b	3d	5a	26.2 h-j	0.65 b-d	0.36 b-i	0.58 c-j	0.42 e-l	0.73 a-f	0.55 a-f	0.83 a-g	0.83 a-g
GA 15	3b	9a	5a	45.1 c	0.58 c-e	0.31 d-i	0.53 e-k	0.45 d-k	0.72 a-g	0.43 d-g	0.59 j-k	0.59 j-k
GA 16	3b	3d	5a	33.2 d-h	0.59 c-e	0.32 d-i	0.54 e-k	0.33 g-l	0.7 a-g	0.5 b-f	0.71 e-k	0.71 e-k
GA 17	3b	5c	5a	34.4 d-g	0.55 c-f	0.26 f-j	0.48 h-k	0.35 g-l	0.6 e-i	0.38 e-g	0.63 h-k	0.63 h-k
GA 18	5a	5c	5a	23.8 j	0.68 a-c	0.35 c-i	0.54 e-k	0.36 f-l	0.77 a-f	0.57 a-e	0.81 a-i	0.81 a-i
GA 19	3b	7b	5a	30.9 f-j	0.67 a-c	0.28 f-j	0.43 j-k	0.31 i-l	0.71 a-g	0.44 d-g	0.62 i-k	0.62 i-k
GA 20	3b	5c	5a	32.4 e-i	0.66 a-d	0.28 f-j	0.42 j-k	0.32 h-l	0.72 a-g	0.45 d-g	0.62 i-k	0.62 i-k
GA 21	3b	9a	1b	44.5 c	0.47 d-g	0.22 g-j	0.47 h-k	0.45 d-k	0.58 f-i	0.36 f-g	0.62 i-k	0.62 i-k
GA 22	5a	9a	5a	28.8 g-j	0.59 c-e	0.35 c-i	0.59 c-j	0.29 i-l	0.66 b-i	0.45 d-g	0.68 f-k	0.68 f-k
GA 23	5b	7b	1b	39.5 c-e	0.67 a-c	0.48 b-e	0.79 b	0.56 b-f	0.79 a-e	0.58 a-d	0.84 a-g	0.84 a-g
GA 24	3b	9a	1b	54.4 b	0.71 a-c	0.71 a	1.13 a	0.67 a-c	0.84 ab	0.61 a-d	0.81 a-i	0.81 a-i
GA 25	3b	5c	5a	23.5 j	0.72 a-c	0.43 b-f	0.64 b-h	0.38 f-l	0.82 a-c	0.56 a-e	0.76 b-j	0.76 b-j
GA 26	3b	3d	5a	24j	0.42 e-g	0.19 i-j	0.44 i-k	0.24 k-l	0.67 b-i	0.44 d-g	0.65 g-k	0.65 g-k
GA 27	3b	3d	5a	29.1 g-i	0.82 ab	0.53 bc	0.73 b-d	0.49 c-i	0.87 a	0.71 a	0.96 a	0.96 a
GA 28	3b	9a	5a	37.2 d-f	0.63 b-d	0.4 b-h	0.68 b-f	0.53 b-h	0.71 a-g	0.56 a-e	0.88 a-e	0.88 a-e
GA 29	3b	9a	5a	45.1 c	0.61 c-e	0.38 b-h	0.65 b-h	0.62 a-e	0.66 b-i	0.48 b-f	0.81 a-i	0.81 a-i
GA 30	3b	9a	5a	27.5 g-j	0.74 a-c	0.49 b-d	0.75 bc	0.54 b-g	0.8 a-d	0.62 a-d	0.92 a-c	0.92 a-c
GA 31	3b	3d	1b	27.8 g-i	0.39 f-g	0.21 h-j	0.56 d-k	0.28 i-l	0.5 hi	0.36 f-g	0.72 d-k	0.72 d-k
GA 32	3b	5c	1b	32.4 e-i	0.6 c-e	0.3 d-i	0.5 f-k	0.37 f-l	0.72 a-g	0.46 c-g	0.65 g-k	0.65 g-k
GA 33	3b	3d	1b	25.2 i-j	0.65 b-d	0.41 b-g	0.67 b-g	0.4 f-l	0.71 a-g	0.58 a-d	0.91 a-d	0.91 a-d
GA 34	3b	5c	1b	32.5 e-i	0.7 a-c	0.42 b-f	0.64 b-h	0.52 b-i	0.8 a-d	0.56 a-e	0.79 a-i	0.79 a-i
GA 35	3b	3d	5a	63a	0.67 a-c	0.32 d-i	0.48 g-k	0.78 a	0.77 a-f	0.54 a-f	0.78 a-i	0.78 a-i
GA 36	3b	7b	5a	34.4 d-g	0.34 g	0.11 j	0.38 k	0.25 k-l	0.48 i	0.28 g	0.56 k	0.56 k

* در هر ستون، میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند در سطح احتمال پنج درصد با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری ندارند.
* Mean values with similar letters in each column are not significantly different at 5% of probability level using Duncan's multiple range test

جدول ۷- عملکرد و صفات فنولوژیک ۳۶ رقم و ژنوتیپ امیدبخش بادام روی پایه GN15

Table 7- The yield and phenological traits of 36 promising almond cultivars and genotypes on GN15 rootstock

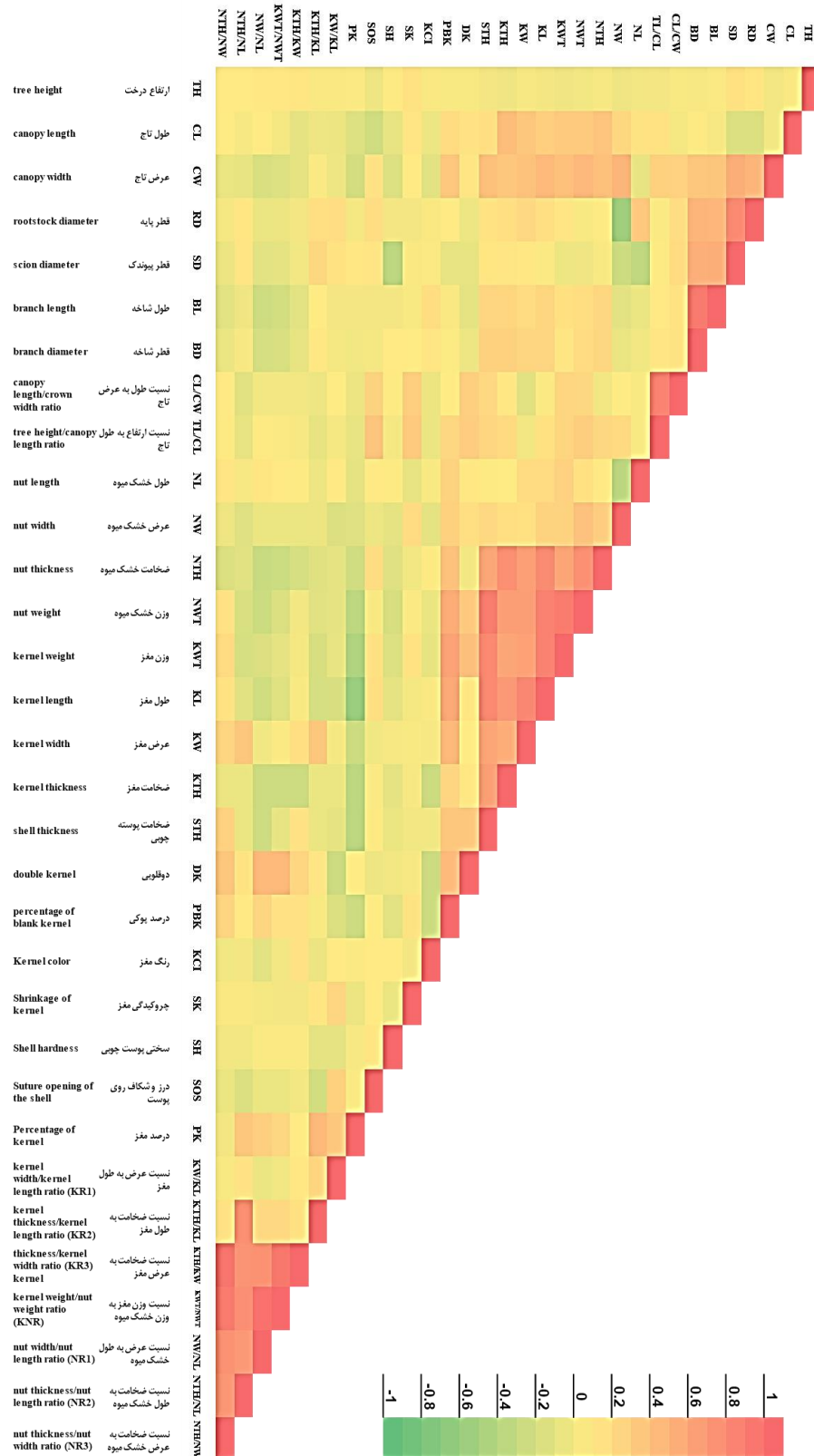
ژنوتیپ‌ها Genotypes	عملکرد Yield (g)	تاریخ گل‌دهی Season of flowering (code)	عادت گل‌دهی Location of flower buds (code)	زمان رسیدن Harvest maturity (code)
GA1	102.8g-i*	8b	3a	7b
GA2	102.2g-i	7c	1c	7b
GA3	1182a	7c	2b	7b
GA4	295.8c-i	7c	3a	5c
GA5	362.3c-i	8b	3a	7b
GA6	249.5d-i	7c	3a	5c
GA7	84hi	9a	3a	7b
GA8	347c-i	9a	3a	7b
GA9	120g-i	7c	2b	7b
GA10	554.2b-e	7c	3a	5c
GA11	196.7e-i	7c	3a	5c
GA12	172f-i	7c	2b	7b
GA13	167.2f-i	7c	3a	5c
GA14	511.7b-f	8b	2b	7b
GA15	93.3hi	7c	3a	9a
GA16	641.7bc	7c	3a	5c
GA17	350c-i	7c	3a	7b
GA18	305.1c-i	7c	2b	7b
GA19	408.5b-h	8b	2b	7b
GA20	720.2b	8b	2b	9a
GA21	227e-i	7c	2b	5c
GA22	463.4b-g	7c	3a	5c
GA23	423.4b-h	8b	2b	7b
GA24	382b-i	6d	2b	3d
GA25	413.3b-h	9a	2b	9a
GA26	606.7b-d	8b	3a	7b
GA27	398.3b-h	8b	3a	5c
GA28	218.3e-i	9a	3a	5c
GA29	382.6b-i	5e	1c	3d
GA30	77hi	5e	1c	5c
GA31	536.8b-e	8b	3a	7b
GA32	29.9i	7c	3a	7b
GA33	408.3b-h	5e	1c	3d
GA34	246.7d-i	8b	1c	7b
GA35	315c-i	7c	3a	5c
GA36	93.6hi	6d	3a	5c

* در هرستون، میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، در سطح احتمال پنج درصد با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری ندارند.

* Mean values with similar letters in each column are not significantly different at 5% of probability level using Duncan's multiple range test

جدول ۸- نمودارهای حرارتی همبستگی بین صفات ریخت‌شناختی، خشک‌میوه و مغز اندازه‌گیری شده

Table 7- Heat map of the correlation between the measured morphological, nut and kernel traits



ژنوتیپ‌های امیدبخش و قابل توصیه معرفی شدند. در پژوهش رسولی و همکاران (Rasouli et al., 2019) به منظور گروه‌بندی و مقایسه ۱۰۰ ژنوتیپ بذری بادام صفات رویشی، خشک‌میوه و مغز بادام اندازه‌گیری شد. براساس نتایج این پژوهش، تنوع ژنتیکی خوبی در این ژنوتیپ‌ها مشاهده شد و صفات مربوط به خشک‌میوه و مغز بیشترین تأثیر را در جداسازی ارقام و ژنوتیپ‌ها داشتند. در مطالعه پرز سانچز و مورال کورتز (Pérez-Sánchez & Morales-Corts, 2021)، خصوصیات ریخت‌شناسی، میوه‌شناسی و شیمیایی ۲۴ رقم بادام برای سه سال مورد ارزیابی قرار گرفت، براساس این مطالعه، ارقام José Gorda و Marcelina دارای عملکرد بالا و خشک‌میوه-هایی با کیفیت بالا (وزن بالا، درصد دوقلویی پایین و ارزش غذایی بالا) معرفی شدند. در مطالعه خوجند (Khojand et al., 2023) برخی ارقام و ژنوتیپ‌های بادام از نظر صفات خشک‌میوه و مغز، میزان روغن و اسیدهای چرب مورد بررسی قرار گرفتند. با توجه به مجموع صفات اندازه‌گیری شده در این مطالعه، ژنوتیپ D ۱۲۴ و ارقام سه‌سند، شاه‌روغ، صبا و روبی (Ruby) به‌عنوان ژنوتیپ‌های برتر و با ارزش معرفی شدند.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که بررسی صفات رویشی، فنولوژی، خشک‌میوه و مغز در ارقام و ژنوتیپ‌های مورد بررسی تا حد زیادی توانست تنوع بین ارقام و ژنوتیپ‌ها را نشان دهد. ارقام و ژنوتیپ‌های دارای درصد مغز بیشتر، پوست نازک‌تر، میزان نقوش بیشتر روی پوست و رنگ مغز روشن تا متوسط داشتند. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که صفات ارتفاع درخت، عرض تاج‌پوشش درخت، قطر پایه و پیوندک، طول و قطر شاخه و نسبت ارتفاع به طول تاج‌پوشش درخت در ارقام و ژنوتیپ‌های مورد بررسی معنی‌دار بود. مطابق با نتایج این مطالعه، تنوع زیادی بین ارقام و ژنوتیپ‌های مورد بررسی از نظر صفات خشک‌میوه و مغز وجود داشت که بیانگر این است که این ارقام و ژنوتیپ‌ها می‌توانند به‌عنوان منبع ژرم‌پلاسم خوب برای برنامه‌های به‌نژادی در نظر گرفته شود. بیشترین عملکرد در ژنوتیپ‌های GA۲۰، GA۱۶ و GA۲۶ مشاهده شد. براساس نتایج به‌دست آمده، ارقام و ژنوتیپ‌های GA۵، GA۲۴، GA۱۲، GA۹ و GA۱ از نظر صفات خشک‌میوه و مغز برتری نسبی نشان دادند که ژنوتیپ GA۲۴ نسبتاً دیرگل، ژنوتیپ‌های GA۱ و GA۵ خیلی دیرگل بودند و گل‌دهی ارقام و ژنوتیپ‌های GA۹، GA۱۲ و GA۲۴ روی اسپور و GA۵ و GA۱ مختلط بود. نتایج این مطالعه نشان داد که ژنوتیپ ۳۵ پیوند شده روی پایه GN۱۵ ژنوتیپی دیرگل، عادت باردهی مختلط، زمان برداشت (بلوغ) متوسط، بیشترین طول، عرض و قطر خشک‌میوه، بیشترین وزن خشک و وزن مغز، رنگ مغز روشن،

محققان دیگری در طول سال‌های مختلف، خصوصیات ریخت‌شناسی، فنولوژی و میوه‌شناسی ارقام و ژنوتیپ‌های مختلف بادام را بررسی نمودند. درستکار و همکاران (Dorostkar et al., 2011) در استان فارس خواص رویشی، ریخت‌شناختی، خصوصیات کمی و کیفی خشک‌میوه و مغز ۲۲ رقم بادام خارجی و ۳۲ ژنوتیپ از بادام‌های مشهور استان فارس را که قبلاً جمع‌آوری شده بودند را براساس توصیف‌نامه بین‌المللی بادام (Gülcan, 1985) مورد بررسی قرار داده و گزارش دادند که در بین ارقام بادام مورد بررسی ارقام بادام شماره ۲۱، ۶، ۱۴، ۳، ۸، ۲۴، ۱۰ و ۷ از نظر میزان عملکرد و سایر صفات نسبت به دیگر ارقام برتری داشتند. در پژوهش مرادی و موسوی (Moradi & Mousavi, 1999) خصوصیات ریخت‌شناسی و میوه‌شناسی سه رقم بادام محلی چهارمحال بختیاری را تشریح کردند. در پژوهش موسوی و همکاران (Mousavi et al., 2020) پس از بررسی ویژگی‌های کمی و کیفی ۵۵ رقم و ژنوتیپ بادام، گزارش کردند که ژنوتیپ‌ها از نظر تمام صفات کمی و کیفی نسبت به هم اختلاف معنی‌دار دارند که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. در پژوهش خدیوی خوب و اساتی (Khadiivi-Khub & Osati, 2016) پس از بررسی ۹۰ نژادگان بادام گزارش کردند که بین نژادگان‌های مورد بررسی از نظر تمامی صفات به‌ویژه ابعاد و وزن خشک‌میوه و مغز، زمان رسیدن، درصد مغز و درصد دوقلویی اختلاف معنی‌داری وجود داشت که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. وجود تنوع بالا در صفات خشک‌میوه و مغز از جمله درصد مغز، وزن خشک‌میوه و دوقلویی در سایر پژوهش‌ها (Mousavi et al., 2020; Mousavi et al., 2010; Rasouli et al., 2015; Rasouli et al., 2012; Rasouli et al., 2019) گزارش شده است که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. وزوایی (Vezvaei, 1985)، ضمن شناسایی ارقام بادام مناطق مختلف استان تهران و مرکزی، خصوصیات کمی و کیفی محصول این ارقام را جهت انتخاب بهترین ارقام مورد بررسی قرار داده و ارقام بادام دیرگل کاشان-۸، تفرش-۴ و شمیران-۱۳ را به‌عنوان ارقام برتر انتخاب کرده است. تنوع ریخت‌شناختی زیادی بین ۱۴ رقم داخلی و خارجی بادام در مراکش گزارش شد (Zinelabidine et al., 2015). نتایج حاصل از پژوهش مله‌ویی و همکاران (Melhaoui et al., 2019) نشان داد که تنوع زیادی از نظر صفات پومولوژیک بین ارقام مختلف بادام منطقه مراکش وجود دارد. با بررسی خصوصیات ریخت‌شناسی ۱۹۸ نهال بادام در پژوهش بیگی و خدیوی (Beigi & Khadiivi, 2023)، ۱۹ ژنوتیپ دیرگل و امیدبخش بادام معرفی شد. در مطالعه موسوی و همکاران (Mousavi et al., 2015) جهت دستیابی به ژنوتیپ‌های امیدبخش گردو در استان چهارمحال و بختیاری، برخی صفات فنولوژیک و پومولوژیک ۵۸ ژنوتیپ انتخابی طی سه سال مورد ارزیابی قرار گرفت. براساس نتایج این مطالعه، ژنوتیپ‌های ۳، ۵، ۱۵، ۱۸، ۲۰، ۲۱، ۲۲ و ۴۲ به‌عنوان

مغز بدون چروکیدگی و بیشترین درصد مغز و بیشترین نسبت وزن مغز به وزن خشک میوه را دارا بود.

منابع طبیعی چهارمحال و بختیاری و ایستگاه تحقیقاتی بادام در تأمین مالی و مساعدت در انجام بخشی از پروژه پسا دکتري (شماره طرح: ۴۰۲۰۲۸۹) قدردانی و سپاسگزاری می‌نمایند.

سپاسگزاری

نگارندگان مقاله از همکاری صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور، وزارت علوم، تحقیقات و فناوری، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و

تعارض منافع

نگارندگان اعلام می‌کنند که هیچ‌گونه تعارض منافی ندارند.

References

- 1- Arteaga, N., & Sociasi Company, R. (2001). *Heritability of fruit and kernel traits in almond*. III International Symposium on Pistachios and Almonds 591, Zaragoza, Spain.
- 2- Asgari, K., & Khadivi, A. (2021). Morphological and pomological characterizations of almond (*Prunus amygdalus* L.) genotypes to choose the late-blooming superiors. *Euphytica*, 217(3), 42. <https://doi.org/10.1007/s10681-021-02777-0>
- 3- Ayaz, Z., Zainab, B., Khan, S., Abbasi, A.M., Elshikh, M.S., Munir, A., Al-Ghamdi, A.A., Alajmi, A.H., Alsubaie, Q.D., & Mustafa, A.E.Z.M. (2020). *In silico* authentication of amygdalin as a potent anticancer compound in the bitter kernels of family Rosaceae. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(9), 2444-2451. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.06.041>
- 4- Babadai, R., Mousavi, S.A., & Mehrdad, J. (2017). *Guide to Almond Production*. Islamic Azad University Khorasgan Publications, Khorasgan, Iran. (In Persian)
- 5- Barreca, D., Nabavi, S. M., Sureda, A., Rasekhian, M., Raciti, R., Silva, A.S., Annunziata, G., Arnone, A., Tenore, G. C., & Süntar, İ. (2020). Almonds (*Prunus dulcis* Mill. DA webb): A source of nutrients and health-promoting compounds. *Nutrients*, 12(3), 672. <https://doi.org/10.3390/nu12030672>
- 6- Beigi, F., & Khadivi, A. (2023). Selection of superior late-blooming almond (*Prunus dulcis* [Mill.] DA Webb) genotypes using morphological characterizations. *Food Science and Nutrition*, 11(7), 3844-3857. <https://doi.org/10.1002/fsn3.3370>
- 7- Çantal, D. (2022). *Effect of different rootstocks on fruit quality and plant nutrient content of almond cvs. Ferragnes and Ferraduel*. M.Sc. Thesis, Ege University Graduate School of Applied and Natural Science. p. 56.
- 8- Chalak, L., Chehade, A., & Kadri, A. (2007). Morphological characterization of cultivated almonds in Lebanon. *Fruits*, 62(3), 177-186. <https://doi.org/10.1051/fruits:2007013>
- 9- De Giorgio, D., Leo, L., Zacheo, G., & Lamascese, N. (2007). Evaluation of 52 almond (*Prunus amygdalus* Batsch) cultivars from the Apulia region in Southern Italy. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 82(4), 541-546. <https://doi.org/10.1080/14620316.2007.11512271>
- 10- De Giorgio, D., & Polignano, G. (2001). Evaluating the biodiversity of almond cultivars from germplasm collection field in Southern Italy. *Sustaining the Global Farm*, 56, 305-311.
- 11- Dorostkar, M., Mostafavi, M., Shariat-Panahi, M.S., Hasani, D., Khalighi, A., & Nikzad, A. (2011). Self-compatibility and suitable planting combination of commercial cultivars of almond. *Seed and Plant Improvement Journal*, 27(4), 449-457. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22092/SPIJ.2017.111076>
- 12- FAO. (2021). *FAOSTAT database results*. <http://Fao.stat.org/stat/almond>
- 13- Gouta, H., Ksia, E., Ayachi, M., & Martinez-Gomez, P. (2019). Agronomical evaluation of local Tunisian almond cultivars and their breeding prospects. *European Journal of Horticultural Science*, 84(2), 73-84. <https://doi.org/10.17660/eJHS.2019/84.2.3>
- 14- Gradziel, T.M., & Martínez-Gómez, P. (2002). Shell seal breakdown in almond is associated with the site of secondary ovule abortion. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 127(1), 69-74.
- 15- Gülcan, R. (1985). *Descriptors list for Almond (Prunus amygdalus; Revised)*. International Board for Plant Genetic Resources (IBPGR).
- 16- Heidari, P., Sanaeizadeh, S., Rezaei, M., & Khadivi, A. (2022). Phenotypical and pomological characterization of non-irrigated almond (*Prunus dulcis* Mill.) trees to select superior genotypes. *Erwerbs-Obstbau*, 64(3), 333-343.
- 17- Imani, A., Amani, G., Shamili, M., Mousavi, A., Hamed, R., Rasouli, M., & José Martínez-García, P. (2021). Diversity and broad sense heritability of phenotypic characteristic in almond cultivars and genotypes. *International Journal of Horticultural Science and Technology*, 8(3), 281-289. <https://doi.org/10.22059/ijhst.2020.284452.303>
- 18- Imani, A., Ghoreyshi, H., Mohamadi Torkashvand, A., Azizi-Nazhad, R., & Ebrahimi, R. (2022). Evaluation of morphological and pomological characteristics and yield of almond cultivars and promising genotypes. *Iranian*

- Journal of Horticultural Science and Technology*, 23(2), 277-290. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/20.1001.1.16807154.1401.23.2.7.7>
- 19- Imani, A., Mousavi, A., Biat, S., Rasouli, M., Tavakoli, R., & Piri, S. (2011). Genetic diversity for late frost spring resistance in almond. *Acta Horticulturae*, 912, 371-375. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2011.912.54>
- 20- Janick, J., & Moore, J.N. (1996). *Fruit Breeding, Tree and Tropical Fruits* (Vol. 1). John Wiley and Sons. p. 632.
- 21- Kester, D.E., & Gradziel, T.M. (1996). Almonds In J. Janick & J. N. Moore (Eds.), *Fruit Breeding, Volume 3: Nuts* (pp. 1-97). John Wiley and Sons, Inc.
- 22- Khadivi-Khub, A., & Etemadi-Khah, A. (2015). Phenotypic diversity and relationships between morphological traits in selected almond (*Prunus amygdalus*) germplasm. *Agroforestry Systems*, 89, 205-216. <https://doi.org/10.1007/s10457-014-9754-x>
- 23- Khadivi-Khub, A., & Osati, E. (2016). Evaluation of self-compatibility, flowering time and morphological variables in some almond genotypes to choose superiors. *Plant Production Technology*, 8(1), 103-124. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22084/ppt.2016.1764>
- 24- Khadivi, A., Mirheidari, F., & Moradi, Y. (2022). *Prunus arabica* (Olivier) Meikle, an important genetic resource for breeding of almond: Morphological and pomological characterizations. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 69(5), 1717-1730. <https://doi.org/10.1007/s10722-022-01361-2>
- 25- Khojand, S., Zeinalabedini, M., Azizinezhad, R., Imani, A., & Ghaffari, M.R. (2023). Diversity of nut and kernel weight, oil content, and the main fatty acids of some almond cultivars and genotypes. *Journal of Nuts*, 14(1), 33-44. <https://doi.org/10.22034/jon.2022.1945292.1145>
- 26- Melhaoui, R., Addi, M., Houmy, N., Abid, M., Mihamou, A., Serghini-Caid, H., Sindic, M., & Elamrani, A. (2019). Pomological characterization of main almond cultivars from the North Eastern Morocco. *International Journal of Fruit Science*, 19(4), 413-422. <https://doi.org/10.1080/15538362.2018.1552232>
- 27- Moradi, H., & Mousavi, S.A. (1999). *Characteristics of three varieties of local almonds in Chaharmahal and Bakhtiari province*. First National Conference on Almond, Shahrekord, Iran. (In Persian)
- 28- Mougiou, N., Maletsika, P., Konstantinidis, A., Grigoriadou, K., Nanos, G., & Argiriou, A. (2023). Morphological and molecular characterization of a new self-compatible almond variety. *Agriculture*, 13(7). <https://doi.org/10.3390/agriculture13071362>
- 29- Mousavi, S.A., Ghasemnezhad, M., Tatari, M., & Eskandari, S. (2020). Evaluation of phenotypic diversity of nut and kernel characteristics in some almond cultivars and promising genotypes. *Research in Pomology*, 5(1), 139-151. (In Persian with English abstract). https://rip.urmia.ac.ir/article_120954.html
- 30- Mousavi, S.A., Moghadam, M.R.F., Zamani, Z., & Eimani, A. (2010). Evaluation of quantitative and qualitative characteristics of some almond cultivars and genotypes. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 41(2), 119-131. (In Persian with English abstract)
- 31- Mousavi, S.A., Tatari, M., Moradi, H., & Hassani, D. (2015). Evaluation of genetic diversity among the superior walnut genotypes based on pomological and phenological traits in Chahar Mahal va Bakhtiari province. *Seed and Plant Journal*, 31(2), 365-389. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22092/spij.2017.111264>
- 32- Pérez-Sánchez, R., & Morales-Corts, M.R. (2021). Agromorphological characterization and nutritional value of traditional almond cultivars grown in the Central-Western Iberian Peninsula. *Agronomy*, 11(6), 1238. <https://doi.org/10.3390/agronomy11061238>
- 33- Ranjbar, A., & Imani, A. (2022). Grafting commercial cultivars of almonds on accurate rootstocks mitigates adverse effects of drought stress. *Scientia Horticulturae*, 293, 110-725. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110725>
- 34- Rasouli, M., Fattahi Moghadam, M.R., Zamani, Z., Imani, A., & Ebadi, A. (2012). A study of the phenotypic diversity of some almond cultivars and genotypes, using morphological traits. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 43(4), 357-370. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22059/ijhs.2012.29371>
- 35- Rasouli, M., Jafari Taeme, A., & Rahmati Joneidabad, M. (2019). Evaluation of genetic variation of some almond genotypes using morphological markers. *Pomology Research*, 4(1), 106-120. (In Persian with English abstract)
- 36- Rubio-Cabetas, J.M. (2016). Almond Rootstocks: Overview. In O. Kodad, A. López-Francos, M. Rovira, & R. Socias i Company (Eds.), *XVI GREMPA Meeting on Almonds and Pistachios* (Vol. 119, pp. 133-143). Zaragoza: CIHEAM. <http://om.ciheam.org/om/pdf/a119/00007379.pdf>
- 37- 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>
- 38- Sorkheh, K., Shiran, B., Kiani, S., Amirbakhtiar, N., Mousavi, S., Rouhi, V., Mohammady, D.S., Gradziel, T.M., Malysheva-Otto, L.V., & Martínez-Gómez, P. (2009). Discriminating ability of molecular markers and morphological characterization in the establishment of genetic relationships in cultivated genotypes of almond and related wild species. *Journal of Forestry Research*, 20(3), 183-194. <https://doi.org/10.1007/s11676-009-0036-9>
- 39- Taiz, L., & Zeiger, E. (2010). *Plant Physiology* (5th Ed.). Sinauer Associates.

- 40- Vezvaei, A. (1985). *Evaluation of quantitative and qualitative traits of almond genotypes in Tehran and Central provinces of Iran in order to select superior cultivars*. M.Sc. Thesis, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran. p. 196.
- 41- Yada, S., Lapsley, K., & Huang, G. (2011). A review of composition studies of cultivated almonds. *Macronutrients and Micronutrients*, 24(4-5), 469-480.
- 42- Zahedi, S.M., Abdelrahman, M., Hosseini, M.S., Yousefi, R., & Tran, L.S.P. (2020). Physical and biochemical properties of 10 wild almond (*Amygdalus scoparia*) accessions naturally grown in Iran. *Food Bioscience*, 37, 100721. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100721>
- 43- Zinelabidine, L., H'ssaini, H., Ennahli, S., Latrache, H., & Hmid, I. (2015). Phenotypic, morphological diversity and biochemical characterization of 14 almond cultivars from Morocco. *Moroccan Journal of Chemistry*, 3(3), 3-3 2394-2406. <https://doi.org/10.48317/IMIST.PRSM/morjchem-v3i3.2589>

Effect of the Foliar Application of Copper Nanoparticles on the Growth and Yield of Persian Leek (*Allium ampeloprasum* subsp. *Persicum*) under Salinity Stress

F. Shakarami¹, S. Mousavi-Fard^{2*}, A. Rezaei Nejad³, F. Beiranvand⁴

1, 3 and 4- M.Sc. Student, Professor and Ph.D., Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran, respectively

(*- Corresponding Author Email: Mousavifard.S@sku.ac.ir)

2- Associate Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran

Received: 28-01-2024
Revised: 12-07-2024
Accepted: 17-07-2024
Available Online: 17-07-2024

How to cite this article:

Shakarami, F., Mousavi-Fard, S., Rezaei Nejad, A., & Beiranvand, F. (2024). Effect of the foliar application of copper nanoparticles on the growth and yield of Persian Leek (*Allium ampeloprasum* subsp. *Persicum*) under salinity stress. *Journal of Horticultural Science*, 38(4), 727-743. (In Persian with English abstract).
<https://doi.org/10.22067/jhs.2024.86565.1323>

Introduction

Salinity in water and soil stands as a crucial environmental factor that significantly hampers global agricultural production. Over recent decades, the escalating demand for irrigation in arid and semi-arid regions has intensified this issue, making it a major agricultural challenge. Salinity stress, characterized by reduced water absorption, heightened salt uptake (especially sodium, chlorine, and boron), and the generation of reactive oxygen species, induces oxidative stress in plants, severely impacting their growth and overall performance. To enhance plant tolerance to salinity stress, elicitors are employed as a short-term and viable solution to mitigate the adverse effects of stress. Copper, serving as a cofactor and essential element for numerous enzymes involved in photosynthesis and respiration processes, plays a crucial role in sustaining natural plant growth and metabolism. Copper ions function as cofactors in enzymes like superoxide dismutase (Cu/Zn SOD) and polyphenol oxidase, contributing to the removal of reactive oxygen species. However, the absence of this element in plants cultivated in alkaline and saline soils of arid and semi-arid regions can lead to nutritional disorders. In this context, copper nanoparticles emerge as a suitable alternative to chemical fertilizers due to their rapid and efficient effects. Their use not only mitigates the negative consequences of excessive fertilizer application but also decreases the frequency of applications. The Persian leek (*Allium ampeloprasum* subsp. *Persicum*) is a valuable edible-medicinal plant native to Iran, belonging to the Amaryllidaceae family. It holds significance in Iran as a key leafy vegetable, valued for its freshness and high processing potential among horticultural plants. Given the nutritional and medicinal importance of Persian leek and the prevalence of salinity stress, this study aims to explore the impact of copper nanoparticle spray in modifying the effects of salinity stress on the morphophysiological and biochemical characteristics of Persian leek.

Materials and Methods

A factorial experiment was conducted using a completely randomized design with three replications in the research greenhouses of Lorestan University's Faculty of Agriculture. The experimental conditions included daytime temperatures ranging from 20 to 28 °C, nighttime temperatures from 15 to 20 °C, relative humidity set at 60-70%, and a light intensity of 400-500 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. The first factor involved foliar spraying of copper nanoparticles at control levels (zero), 150, and 300 mg.l^{-1} , while the second factor comprised salinity stress at control levels (zero), 50, 100, and 150 mM sodium chloride. F1 seeds were obtained from Pakan Bazr Company and planted in 1.5-liter pots, with



©2024 The author(s). This is an open access article distributed under [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

<https://doi.org/10.22067/jhs.2024.86565.1323>

each pot containing three plants. The copper nanoparticles were applied through foliar spraying twice on the shoot parts at the four-leaf and six-leaf stages. Salinity stress was introduced one week after the foliar application, implemented through irrigation once every three days at a level corresponding to 90% of the field capacity. The soil mixture comprised an equal ratio of agricultural soil, cow manure, and sand, maintaining a clay-sand loam texture. Following three months of applying salt stress, a comprehensive assessment of morphophysiological characteristics was carried out. This included the measurement of plant height, stem and bulb diameter, leaf count, fresh and dry weights of stem, root leaf, root volume and length, shoot/root ratio, dry matter (%), stress tolerance index, relative water content (RWC), electrolyte leakage, malondialdehyde content, photosynthetic pigments, chlorophyll stability index, as well as the activity of peroxidase and ascorbate peroxidase.

Results and Discussion

The results indicated that salinity stress had a detrimental impact on various aspects of plant growth, including a decrease in plant height, stem and bulb diameter, leaf number, and the fresh and dry weights of the stem, bulb, and root. Additionally, there was a reduction in root volume and length, along with decreased levels of photosynthetic pigments. The percentage of electrolyte leakage, malondialdehyde content, and the activity of antioxidant enzymes, namely peroxidase and ascorbate peroxidase, also increased, highlighting the adverse effects of salinity stress on plant development. The decline in plant growth can be attributed to multiple factors, including diminished cell division, ionic imbalance, reduced water absorption, impaired uptake of essential elements, and the impact of toxic ions, particularly sodium and chlorine. Other contributing factors include impaired absorption, regeneration, and metabolism of nitrogen and protein, as well as stomatal closure, collectively resulting in reduced photosynthetic efficiency. Salinity stress further leads to a reduction in soil water potential and an increase in the osmotic pressure of the soil solution. Consequently, the plant requires more energy to absorb water from the soil, leading to increased respiration and alterations in the hormonal balance of plant tissues, ultimately causing a decrease in growth and negative effects on the plant. The application of copper nanoparticles at both concentrations demonstrated positive effects on various growth components, including plant height, stem and bulb diameter, leaf count, and the fresh and dry weights of the stem, bulb, and root, as well as increased root volume and length. Additionally, the use of copper nanoparticles resulted in a decrease in the percentage of electrolyte leakage and malondialdehyde content, coupled with an increase in the concentration of photosynthetic pigments and the activity of antioxidant enzymes, including peroxidase and ascorbate peroxidase. Notably, the concentration of 150 mg.liter⁻¹ exhibited a more pronounced effect in enhancing plant growth, with a diminishing impact observed at higher concentrations. Copper nanoparticles improve plant growth under stress conditions by influencing the content of cellular antioxidants and modulating the hormonal balance of plant tissues.

Conclusions

The findings of this study indicated that increased salinity stress led to higher electrolyte leakage and malondialdehyde content, along with a reduction in RWC and photosynthetic pigments. These changes caused a decline in the morpho-physiological characteristics of Persian leek. However, salinity stress also increased the activity of peroxidase and ascorbate peroxidase enzymes. Foliar application of copper nanoparticles under these conditions had beneficial effects on the plants. Specifically, at a concentration of 150 mg.liter⁻¹, the negative effects of salinity stress on the morpho-physiological indices of Persian leek were alleviated. This improvement was due to an increase in the activity of antioxidant enzymes, RWC, and the concentration of photosynthetic pigments.

Keywords: Electrolyte leakage, Malondialdehyde, Peroxidase enzyme, Relative water content

مقاله پژوهشی

جلد ۳۸، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۳، ص. ۷۴۳-۷۲۷

بررسی رشد و عملکرد تره ایرانی (*Allium ampeloprasum* subsp. *Persicum*) در پاسخ به محلول پاشی نانوذرات مس تحت تنش شوری

فرهاد شاکرمی^۱ - صادق موسوی فرد^{۲*} - عبدالحسین رضایی نژاد^۳ - فرهاد بیرانوند^۴

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۱/۰۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۴/۲۷

چکیده

هدف از این مطالعه، بررسی تأثیر محلول پاشی نانوذرات مس بر ویژگی‌های رشد و عملکرد گیاه تره ایرانی (*Allium ampeloprasum* subsp. *Persicum*) تحت شرایط تنش شوری بود. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. فاکتور اول شامل محلول پاشی نانوذرات مس در سه سطح صفر (شاهد)، ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی گرم بر لیتر و فاکتور دوم شامل تنش شوری در چهار سطح صفر (شاهد)، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی مولار کلرید سدیم بود که به صورت آبیاری سه روز یکبار (در سطح ۹۰ درصد ظرفیت زراعی) انجام شد. نتایج آزمایش نشان داد که افزایش تنش شوری موجب کاهش معنی داری در ارتفاع بوته، قطر ساقه و پیاز، تعداد برگ، حجم ریشه، وزن تر و خشک اندام هوایی، پیاز و ریشه، شاخص مقاومت به تنش، محتوای کلروفیل a، b و کل، کارتنوئید، شاخص ثابت کلروفیل و محتوای نسبی آب شد و از سوی دیگر، باعث افزایش قابل توجهی در طول ریشه، درصد ماده خشک، نشت الکترولیت، میزان مالون دی آلدئید و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی از جمله پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در گیاه تره ایرانی شد. نتایج نشان داد که محلول پاشی نانوذرات مس اثرات تنش شوری را با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و بهبود تعادل آبی تعدیل کرد. استفاده از هر دو غلظت نانوذرات مس باعث افزایش معنی داری در تمامی ویژگی‌های مورد مطالعه نسبت به شاهد شد. به طور کلی، نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که تنش شوری در همه سطوح دارای اثرات منفی بر رشد و عملکرد در تره ایرانی می باشد، در صورتی که کاربرد نانوذرات مس به ویژه در غلظت ۱۵۰ میلی گرم بر لیتر با افزایش شاخص ثابت کلروفیل، بهبود روابط آبی گیاه و همچنین افزایش شاخص مقاومت گیاه به تنش منجر به افزایش قطر پیاز، وزن تر و خشک اندام هوایی و پیاز شد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم پراکسیداز، مالون دی آلدئید، محتوای نسبی آب، نشت الکترولیت

مقدمه

نتیجه، تنش اکسیداتیو با افزایش تولید و حضور گونه‌های فعال اکسیژن و یا گونه‌های نیتروژن واکنش پذیر ایجاد می شود (Safari et al., 2022). شوری باعث کمبود یا عدم تعادل مواد غذایی معدنی در گیاه می شود. این تأثیر می تواند به دلیل رقابت یون های Na^+ و Cl^- با مواد مغذی مانند پتاسیم (K^+)، کلسیم (Ca^{++}) فسفر (P)، منیزیم (Mg) و نیترات (NO_3^-) باشد (Della Maggiora et al., 2023; Safari et al., 2022).

شوری آب های آبیاری و خاک، یکی از مهم ترین عوامل محیطی محدود کننده تولید محصولات کشاورزی در سراسر جهان است و در طول دهه های گذشته به دلیل افزایش نیاز آبیاری در مناطق خشک و نیمه خشک، یکی از مشکلات عمده کشاورزی شده است (Abdelraheem et al., 2019; Gholamzadeh Alam et al., 2022). تحت شرایط تنش شوری، هدایت روزنه ای، تعرق و دسترسی به دی اکسید کربن کاهش می یابد و روند فتوسنتز تغییر می کند. در

۱، ۳ و ۴- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، استاد و دکتری، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران
(*)- نویسنده مسئول: Email: Mousavifard.S@sku.ac.ir

۲- دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

است که یکی از راهکارهای بهبود تحمل به تنش شوری در گیاهان باغبانی، محلول‌پاشی مواد تعدیل‌دهنده تنش می‌باشد. در این خصوص، طیف وسیعی از ترکیبات شیمیایی و هورمون‌های گیاهی مورد استفاده قرار گرفته است (Safari et al., 2022; Roozbahani et al., 2020). با توجه به اینکه تره ایرانی به‌عنوان یک سبزی بومی و پرمصرف، اهمیت تغذیه‌ای و دارویی زیادی دارد، از طرفی تنش شوری در حال گسترش می‌باشد. لذا پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر محلول‌پاشی نانوذرات مس بر تعدیل اثر تنش شوری بر ویژگی‌های ریخت‌شناختی و بیوشیمیایی تره ایرانی انجام شده است.

مواد و روش‌ها

آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه‌های پژوهشی دانشکده کشاورزی لرستان با دمای روزانه ۲۸-۲۰ درجه سانتی‌گراد و شبانه ۲۰-۱۵ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۷۰-۶۰ درصد و شدت نور ۵۰۰-۴۰۰ میکرومول بر مترمربع در ثانیه با دوره روشنایی ۱۶ ساعت و هشت ساعت تاریکی در بهار و تابستان ۱۴۰۱ اجرا شد. فاکتور اول شامل محلول‌پاشی نانوذرات مس (سطوح صفر؛ شاهد، ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) و فاکتور دوم شامل تنش شوری (سطوح صفر؛ شاهد، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) بود. بذره‌های واریته تره شادگانی از شرکت پاکان پذیر تهیه و در نیمه اول خرداد ماده در گلدان‌هایی با حجم ۱/۵ لیتری کشت شدند (هر گلدان حاوی سه گیاه). نانوذرات مس در مرحله چهاربرگی و شش‌برگی دوبار با فاصله حدود ۱۰ روز روی سطح رویی و زیرین برگ گیاهان محلول‌پاشی شد. یک هفته بعد از محلول‌پاشی، تنش شوری کلرید سدیم به‌صورت آبیاری سه روز یک‌بار در سطح ۹۰ درصد ظرفیت زراعی به‌میزان ۱۵۰ میلی‌لیتر اعمال شد. به‌منظور جلوگیری از اثر تجمع نمک، بعد از پنج مرتبه آبیاری گلدان‌ها با سطح شوری مورد نظر، آب‌شویی گلدان‌ها با ۵۰۰ میلی‌لیتر آب لوله انجام شد تا نمک اضافی از محیط ریشه خارج شود. نانوذرات مس با جرم مولکولی ۶۳/۵۴ از شرکت نانومواد ایرانیان تهیه شد. بستر کاشت شامل نسبت مساوی ۱:۱:۱ خاک زراعی، کود دامی پوسیده و ماسه (با بافت لومی رسی- شنی ۷۱/۷۱ درصد شن، ۴/۰۸ سیلت و ۲۴/۲ درصد رس) بود. تنش شوری به‌مدت سه ماه ادامه داشت و در نیمه اول مهرماه آزمایش پایان یافت، سپس شاخص‌های زیر اندازه‌گیری شد.

ویژگی‌های ریخت‌شناسی شامل ارتفاع گیاه (به‌وسیله خط‌کش بر حسب سانتی‌متر از ناحیه یقه محاسبه شد)، قطر ساقه و طوقه (با استفاده از دستگاه کولیس بر حسب میلی‌متر)، تعداد برگ، وزن تر و خشک لندام هوایی، طول ریشه (به‌وسیله خط‌کش بر حسب سانتی‌متر)، حجم ریشه (از طریق اختلاف حجم ایجاد شده پس از قرار

متابولیسم گیاه توسط عناصر درشت و ریزمغذی تنظیم می‌شود که ریزمغذی‌ها به‌طور عمده در حفاظت سلول، تنظیم بیان ژن‌ها، انتقال پیام و همچنین در بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه و فرآورده‌های آنزیمی نقش عمده‌ای دارند. در میان ریز مغذی‌ها، مس (Cu) یک کوفاکتور و عنصر کلیدی برای بسیاری از آنزیم‌های درگیر در فرآورده‌های فتوسنتز و تنفسی است و به‌عنوان کوفاکتور در بسیاری از آنزیم‌ها مانند سوپراکسید دیسموتاز (Cu/Zn SOD)، سیتوکروم C اکسیداز، آمینو اکسیداز، پلاستوسیانین و پلی فنل اکسیداز شرکت دارد (Thounaojam et al., 2012) و از طریق برخی آنزیم‌ها مانند سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز باعث حذف گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود، در نتیجه کمبود این عنصر در گیاهان روئیده در خاک‌های قلیایی و شور مناطق خشک و نیمه‌خشک می‌تواند منجر به نوعی اختلال تغذیه‌ای شود (Thounaojam et al., 2012).

امروزه نانوفناوری، یک علم جدید و شاخه‌ای جذاب است که اجازه پیشرفت به تحقیقات در بسیاری از زمینه‌ها را می‌دهد. نانوتکنولوژی شامل دامنه‌ای از تکنولوژی‌های مربوط به دستکاری مواد در مقیاس طولی ۱۰۰-۱ نانومتر است (Pérez-Labrada et al., 2019). در این بین، نانوذرات مس می‌توانند به‌دلیل فعل و انفعال با ساختارهای داخل سلولی و سهولت نفوذ در دیواره سلولی به‌دلیل آندوسیتوز، شکل منافذ، پروتئین‌های انتقال‌دهنده یا پلاسموداسماها باعث افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی شوند (Pérez-Labrada et al., 2019). از طرف دیگر، کودهای شیمیایی، نقش اساسی در جبران کمبود عناصر کم‌مصرف در گیاه ایفا می‌کنند، اما به‌واسطه فتولیز (تجزیه آب)، هیدرولیز و فعالیت‌های میکروبی، بخش زیادی از آن از دسترس گیاه خارج می‌شود. در نتیجه، برای کنترل مؤثر و تأمین کمبود عناصر، تکرار کوددهی ضروری بوده که این خود منجر به اثرات ناخواسته‌ای همچون آلودگی آب و خاک و در نتیجه، شوری بیشتر خاک می‌گردد. از این‌رو به‌کارگیری نانوذرات به‌عنوان جایگزینی مناسب برای کودهای شیمیایی (برای به حداقل رسیدن اثرات منفی مصرف بیش از حد آن‌ها و کاهش تعداد دفعات کاربردشان) می‌تواند یکی از راه‌های مؤثر در رفع نیاز غذایی گیاهان به عناصر کم‌مصرف و افزایش جذب این عناصر باشد (Siddiqi et al., 2020).

تره ایرانی (*Allium ampeloprasum* subsp. *Persicum*) یکی از گونه‌های مهم خانواده Alliaceae است که به‌عنوان یک گیاه بومی ایرانی و یکی از سبزی‌های برگ‌ی مهم در ایران شناخته می‌شود. گیاهی دو ساله، چندچین دارای برگ‌های با عرض ۴-۱ سانتی‌متر و به‌طول ۳۰-۲۰ سانتی‌متر است. پس از هر بار برداشت، برگ‌های جدید عریض‌تر و طول‌تر شده و در قاعده همدیگر را می‌پوشانند (Panahandeh, 2015). تولید سبزی‌ها به لحاظ اهمیت تازه‌خوری و فراوری زیاد آن‌ها در بین گیاهان باغبانی از اهمیت بسیاری برخوردار است (Panahandeh, 2015). مطالعات نشان داده

$$\text{Total Chl (mg.g}^{-1}\text{)} = 7.05 \times (A_{662}) + 18.09 \times (A_{645}) \quad (7)$$

$$\text{Car} = 1000 \times (A_{470} - 1.90 \times \text{Chl a} - 63.14 \times \text{Chl b}) / 214$$

شاخص ثبات كلروفيل نيز از معادله ۸ به دست آمد (Vinaya Rai & Parthiban, 1995).

(۸)

$$\text{Chlorophyll Stability Index (CSI)(\%)} = \frac{\text{Total chlorophyll contents (stressed)}}{\text{Total chlorophyll contents (control)}} \times 100$$

اندازه گيرى ميزان مالون دى آلديد با استفاده از تيوباربىتوريك اسيد به عنوان معرف و براساس روش وانگ و همكاران (Wang et al., 2009) انجام شد. بدین منظور، يك دهم گرم از بافت تازه گياه (برگ) با استفاده از نيترژن مایع درون هاون چینی خرد شد، سپس پنج میلی لیتر از محلول نیم درصد تيوباربىتوريك اسيد (حل شده در تری كلرو استیک اسيد) به آن اضافه و در فالكون ریخته شد. به منظور انجام واكنش، فالكون ها به مدت ۱۵ دقیقه درون حمام آب گرم با دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد قرار گرفتند، پس از این مدت، بلافاصله با استفاده از یخ سرد شدند. مخلوط در ۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. جذب روشناور در سه طول موج ۴۵۰، ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر با دستگاه اسپكتروفوتومتر (SHIMADZU, model UV-1700, Japan) قرائت شد و سپس ميزان مالون دى آلديد بر حسب ميكرومول بر گرم وزن تر محاسبه گردید.

(۹)

$\text{MDA} = 6.45(\text{OD}_{532} - \text{OD}_{600}) - 0.56(\text{OD}_{450})$

برای اندازه گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز از روش ناکانو و آسادا (MacAdam et al., 1992) استفاده شد. میزان فعالیت بر حسب ميكرومول بر دقیقه بر گرم وزن تر محاسبه شد. در ابتدا، سه دهم گرم نمونه (برگ) با ۱۵۰۰ ميكرولیتر بافر فسفات پتاسیم (۵۰ میلی مولار) هموژن شد. محلول حاصل به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه در دمای چهار درجه سانتی گراد سانتریفیوژ گردید. سپس ۱۲۰۰ ميكرولیتر بافر (۵۰ میلی مولار) و ۵۰ ميكرولیتر آب اكسیژنه و ۵۰ ميكرولیتر گایاکول با ۵۰ ميكرولیتر از روشناور در طول موج ۴۷۵ نانومتر به مدت ۱۳۰ ثانیه با دستگاه اسپكتروفوتومتر (UV-600A) قرائت شد. میزان فعالیت آنزیم بر حسب ميكرومول بر دقیقه بر گرم وزن تر محاسبه شد.

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نيز طبق روش ناکانو و آسادا (Nakano & Asada, 1981) اندازه گیری شد. يك دهم گرم نمونه (برگ) با ۱۰۰۰ ميكرولیتر بافر فسفات سدیم (۵۰ میلی مولار) حاوی EDTA (دو میلی مولار) و PVP (يك درصد) هموژن شد. محلول حاصل به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه در دمای چهار درجه سانتی گراد سانتریفیوژ گردید. ۱۵۰۰ ميكرولیتر بافر استخراج بدون اسید آسکوربیک و ۳۰۰ ميكرو لیتر بافر (۵۰ میلی مولار) محتوی اسید

گرفتن ریشه در حجم مشخصی از آب براساس قانون ارشمیدوس بر حسب سانتی متر مکعب، محاسبه شد)، وزن تر و خشک ریشه، نسبت اندام هوایی به اندام زیرزمینی، درصد ماده خشک (Starman & Lombardini, 2006) و شاخص مقاومت به تنش خشکی (معادله ۱) (Fischer & Maurer, 1978) نيز طبق معادله زیر اندازه گیری شد:

(۱)

$$\text{STI (Stress tolerance index)(\%)} = \frac{\text{Total dry weight (g)}}{\text{Control dry weight (g)}} \times 100$$

ویژگی های فیزیولوژیکی: محتوای نسبی آب برگ گیاه

به روش ریچی و نگوین (Ritchie & Nguyen, 1990)، اندازه گیری شد. پس از اندازه گیری وزن تر (FW)، نمونه های برگ به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر غوطه ور شد. پس از آن، وزن تورژسانس (TW) آن اندازه گیری گردید. جهت اندازه گیری وزن خشک (DW) به مدت ۴۸ ساعت نمونه ها در داخل آون و در دمای ۸۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت. در نهایت، محتوای نسبی آب برگ (RWC) بر حسب درصد از معادله ۲ محاسبه شد.

$$\text{RWC (\%)} = (\text{FW} - \text{DW} / \text{TW} - \text{DW}) \times 100 \quad (2)$$

برای تعیین نفوذپذیری غشاء سلولی، براساس روش لوتس و همكاران (Lutts et al., 1996)، از برگ های جوان كاملاً توسعه یافته، نمونه برداری شد. نمونه های برگى در ابعاد يك سانتی متری بریده و سپس با آب مقطر شسته شد. پس از آن به مدت دو ساعت در دمای اتاق و در داخل لوله های شیشه ای درب دار حاوی ۱۰ میلی لیتر آب مقطر قرار گرفت. هدایت الکتریکی اولیه (E1) با دستگاه EC متر قرئت شد. نمونه ها در اتوکلاو و در دمای ۱۲۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ دقیقه قرار گرفته و پس از سرد شدن نمونه ها، هدایت الکتریکی ثانویه (E2) قرائت شد. در نهایت، درصد نشت الكترونيك برگ از معادله ۳ محاسبه شد

$$\text{EL (\%)} = (\text{E1} / \text{E2}) \times 100 \quad (3)$$

اندازه گیری میزان كلروفیل و كارتنوئید برگ ها، به روش لیختن هالر (Lichtenthaler, 1987)، انجام شد. ابتدا ۰/۱ گرم از برگ توزین شد. برگ در هاون چینی با ازت مایع خرد و با ۱۰ میلی لیتر استون خالص مخلوط شد. عصاره به دست آمده در فالكون ۱۵ میلی لیتری ریخته و در ۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس با استفاده از اسپكتروفوتومتر، جذب محلول در طول موج های ۶۴۵، ۶۶۲ و ۴۷۰ نانومتر اندازه گیری شد. استون به عنوان محلول شاهد برای تنظیم صفر جذب نوری اسپكتروفوتومتر استفاده شد. در نهایت، غلظت رنگیزه ها با استفاده از معادلات زیر محاسبه و براساس میلی گرم در گرم محاسبه شد.

$$\text{Chl a (mg.g}^{-1}\text{)} = (11.24 \times A_{662}) - (2.04 \times A_{645}) \quad (4)$$

$$\text{Chl b (mg.g}^{-1}\text{)} = (20.13 \times A_{645}) - (4.19 \times A_{662}) \quad (5)$$

(۶)

آسکوربیک و سه میکرولیتر آب اکسیژنه با ۵۰ میکرولیتر از روشناور در طول موج ۲۹۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (UV-600A) قرائت شد. میزان فعالیت آنزیم بر حسب میکرومول بر دقیقه بر گرم وزن تر محاسبه شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری Minitab V20 انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد و رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel صورت گرفت.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تنش شوری و نانوذرات مس در سطح احتمال یک درصد بر ارتفاع بوته تأثیر معنی‌داری داشت، ولی اثر متقابل تنش شوری و نانوذرات مس بر این ویژگی معنی‌دار نبود (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که تنش شوری اثر منفی بر رشد گیاه داشت، به‌طوری‌که بیشترین ارتفاع بوته در شاهد (۵۸/۷۳ سانتی‌متر) و کمترین مقدار آن در سطح شوری ۱۵۰ میلی‌مولار (۲۴/۷ درصد کاهش در مقایسه با شاهد) به‌دست آمد (جدول ۴). همچنین محلول‌پاشی نانوذرات مس موجب افزایش ارتفاع بوته گردید و بیشترین ارتفاع بوته در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر (۱۴/۳۲ درصد افزایش در مقایسه با شاهد) مشاهده شد (جدول ۵).

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر متقابل تنش شوری و نانوذرات مس در سطح احتمال یک درصد بر قطر ساقه تأثیر معنی‌داری داشت (جدول ۱). مقایسه میانگین اثر متقابل نشان داد که با افزایش سطح تنش شوری، قطر ساقه کاهش یافت و در سطح ۱۵۰ میلی‌مولار، کاهش ۴۱/۹۱ درصدی در مقایسه با شاهد نشان داد. اما محلول‌پاشی نانوذرات در دو سطح شوری ۵۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار سبب افزایش قطر ساقه شد. در کل، بیشترین قطر ساقه در شاهد (بدون شوری و نانوذرات) (۷/۷۳ میلی‌متر) و کمترین آن نیز در تیمار ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم بدون نانوذرات مس (۴/۴۹ میلی‌متر) به‌دست آمد (جدول ۳). نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر متقابل تنش شوری و نانوذرات مس در سطح احتمال یک درصد بر قطر پیاز تأثیر معنی‌داری داشت (جدول ۱). مقایسه میانگین اثر متقابل نشان داد که با افزایش سطح تنش شوری از قطر پیاز کاسته شد، به‌طوری‌که در سطح ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم، کاهش ۳۲/۴۷ در مقایسه با شاهد نشان داد. کاربرد نانوذرات مس در سطح بدون تنش باعث کاهش قطر پیاز شد، اما در سطوح تنش شوری به‌خصوص در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر سبب افزایش قطر پیاز شد. در کل، بیشترین (۱۲/۸۴ میلی‌متر) و کمترین (۸/۶۷ میلی‌متر) قطر پیاز به‌ترتیب در شاهد (صفر میلی‌مولار کلرید سدیم و عدم محلول‌پاشی نانوذرات مس) و تیمار ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم بدون نانوذرات مس ثبت شد (جدول ۳).

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تنش شوری در سطح احتمال یک درصد بر تعداد برگ تأثیر معنی‌داری داشت، ولی اثر نانوذرات مس و اثر متقابل تنش شوری و نانوذرات مس بر این ویژگی معنی‌دار نبود (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که با افزایش تنش شوری از تعداد برگ کاسته شد، هر چند اختلاف معنی‌داری بین سطوح مختلف تنش شوری (۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ میلی‌مولار) مشاهده نشد و بیشترین تعداد برگ نیز در شاهد (۶/۲۲ در بوته) به‌دست آمد (جدول ۴).

نتایج پژوهش اکبری و همکاران (Akbari et al., 2011) نشان داد که با افزایش غلظت شوری ناشی از کلرید سدیم، از ارتفاع گیاه و تعداد برگ گیاه تره ایرانی کاسته شد که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. جلوگیری از رشد گیاه تحت تنش شوری می‌تواند به‌دلیل کاهش تقسیم سلولی، عدم تعادل یونی، کاهش جذب آب (افزایش تنش اسمزی)، اختلال در جذب عناصر، تأثیر یون‌های سمی به‌ویژه سدیم و کلر، اختلال در جذب، احیا و متابولیسم نیتروژن و پروتئین، بسته شدن روزنه‌ها و کاهش کارایی فتوسنتز باشد (Raza et al., 2022). کاهش پتانسیل آب مانع از تقسیم سلولی، رشد اندام‌ها، فتوسنتز و تولید پروتئین می‌شود و تعادل هورمونی بافت‌های اساسی گیاه را تغییر می‌دهد و با افزایش غلظت املاح، فشار اسمزی محلول خاک زیاد شده، در نتیجه مقدار انرژی که گیاه باید صرف جذب آب از خاک کند، افزایش می‌یابد که این خود باعث افزایش تنفس و کاهش ارتفاع و عملکرد گیاه می‌شود (Raza et al., 2022). از طرفی دیگر، کاهش سطح برگ نیز در شرایط تنش شوری در نتیجه کاهش اندازه و تعداد سلول‌ها اتفاق می‌افتد که منجر به کاهش سطوح تعرق‌کننده شده و بنابراین در حفظ تعادل آبی گیاه نقش به‌سزایی دارد (Osakabe et al., 2014). در سطوح شوری بالا، برگ‌ها کوچک‌تر و ضخیم‌تر می‌شوند که این تغییرات ناشی از محدود شدن گسترش سلولی به‌دلیل کاهش فشار آماز و تنش ثانویه اسمزی است (Jampeetonga & Brix, 2009; Croser et al., 2001). همچنین کاهش سطح برگ در اعمال شوری می‌تواند به‌دلیل کاهش مواد فتوسنتزی جهت رشد و توسعه سلول‌های برگ باشد (Betran et al., 2003).

جدول ۱- تجزیه واریانس تأثیر نانوذرات مس بر صفات رشدی تره ایرانی تحت تنش شوری
Table 1- ANOVA for the effect of copper nanoparticles on growth characteristics of Persian leek under salinity stress

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی d.f	ارتفاع گیاه Plant height	تعداد برگ Number of leaves	قطر ساقه Stem diameter	قطر پیاز Bulb diameter	وزن تر شوت هوانی Shoot fresh weight	وزن خشک اندام هوانی Shoot dry weight	پیاز Bulb fresh weight	وزن خشک پیاز Bulb dry weight	طول ریشه Root length	حجم ریشه Root volume	وزن تر ریشه Root fresh weight	وزن خشک ریشه Root dry weight	نسبت اندام هوانی به زیرزمینی Shoot/root ratio	درصد وزن خشک percentage of dry matter	شاخص مقاومت به تنش STI ¹
شوری Salinity	3	357.3**	7.1**	5.620**	10.22**	4332.7**	20.88**	25.1**	0.529**	2.642**	4567.1**	3967.1**	31.92**	0.0473**	36.09**	4019.5**
نانوذرات مس NP-Cu	2	136.9**	0.33 ^{ns}	0.420**	1.629**	75.4**	0.393**	0.65 ^{ns}	0.164**	1.941*	60.86**	69.90**	1.47**	0.00008 ^{ns}	0.56 ^{ns}	167.2**
شوری × نانوذرات مس Salinity × NP-Cu	6	2.88 ^{ns}	0.33 ^{ns}	1.41**	1.63**	33.6**	0.215*	0.782*	0.082*	2.621**	4.75 ^{ns}	4.97 ^{ns}	0.76**	0.00111 ^{ns}	0.54 ^{ns}	79.55**
خطای آزمایشی Error	22	1.71	0.212	0.057	0.018	1.08	0.060	0.294	0.023	0.363	2.81	4.21	0.09	0.0012	0.43	3.95
ضریب تغییرات C.V (%)		2.58	10.71	3.99	1.28	2.57	6.99	4.76	6.21	2.93	3.45	4.31	5.57	8.35	5.55	3.00

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

جدول ۲- تجزیه واریانس تأثیر نانوذرات مس بر شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی تره ایرانی تحت تأثیر تنش شوری
Table 2- ANOVA for the effect of copper nanoparticles on the physiological and biochemical indices of Persian leek under salinity stress

منبع تغییرات S. O. V.	درجه آزادی d.f	میانگین مربعات Mean squares									
		محتوای نسبی آب Relative water content	نشت الکترولیت Electrolyte leakage	مالون دی‌الدهید Malondi aldehyde	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کاروتنوئید Carotenoid	کلروفیل کل Total chlorophyll	شاخص ثبات کلروفیل CSI	پراکسیداز یداز Peroxi dase	آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase
شوری Salinity	3	76.65**	299.33**	0.0152**	3.817**	1.304**	0.640**	9.421**	2697.3*	9.421**	0.0055**
نانوذرات مس NP-Cu	2	7.68*	70.27**	0.0010**	4.659**	0.363**	0.583**	7.618**	2181.3*	7.618**	0.0154**
شوری × نانوذرات مس Salinity × NP-Cu	6	8.67**	7.83 ^{ns}	0.0001 ^{ns}	0.035 ^{ns}	0.026 ^{ns}	0.016 ^{ns}	0.057 ^{ns}	16.4 ^{ns}	0.057 ^{ns}	0.0003*
خطای آزمایشی Error	22	2.02	2.13	0.0001	0.123	0.020	0.024	0.163	46.94	0.163	0.0001
ضریب تغییرات C.V (%)		1.59	5.33	12.45	9.35	10.37	11.72	7.92	7.92	7.47	5.17

CSI: Chlorophyll stability index

ns و **: بدتریب عدم وجود اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد
ns, * and **: non- significant and significant at the 5% and 1% of probability level , respectively.

جدول ۳- تاثير نانوذرات مس بر صفات رشدى گياه تره ايرانى تحت تاثير تنش شورى

Table 3- The effect of copper nanoparticles on the growth characteristics of Persian leek under salinity stress

شورى (mM)	ناوذرات مس NP-Cu (mg.l ⁻¹)	قطر ساقه Stem diameter (mm)	قطر پياز Onion diameter (mm)	وزن تر اندام هوايى Shoot Fresh weight (g)	وزن خشك اندام هوايى Shoot Dry weight (g)	وزن تر پياز Fresh weight of onion (g)	وزن خشك پياز Dry weight of onion (g)	طول ريشه Root length (cm)	وزن خشك ريشه Root dry weight (g)	شاخص مقاومت به تنش STI (%)	محتواى نسبي آب Relative water content (%)	آسكوربات پراكسيداز Ascorbate peroxidase (μmol.min ⁻¹ .g ⁻¹ FW)
0	0	7.73a	12.84a	74.66a	5.804a	13.80a	2.912a	20.07ef	8.466a	100a	90a	0.1514g
	150	6.28bc	10.82e	72.51b	5.384b	12.84b	2.707ab	21.43bcd	7.977a	94b	87bcd	0.2036e
	300	6.40b	11.81b	68.68c	5.476ab	12.57bc	2.539bc	20.53def	7.428b	90c	88bc	0.2193de
50	0	5.13ef	10.74e	39.02f	3.107d	11.59d	2.398cde	20.53def	4.973e	61f	85def	0.1770f
	150	5.87d	11.09cd	45.36d	3.753c	12.29bcd	2.598bc	19.60f	6.429c	74d	89ab	0.2082e
	300	5.95cd	11.26c	43.33e	3.443cd	11.81cd	2.447cd	20.40ef	5.907d	69e	87cd	0.2621b
100	0	6.38b	9.51h	24.44h	2.126g	9.55ef	2.082fg	22.47a	3.963f	48h	84efg	0.1843f
	150	5.29e	10.39f	32.62g	2.638e	10.26e	2.398cde	20.27ef	4.944e	58f	86cde	0.2139e
	300	5.06ef	10.95de	33.38g	2.421ef	10.03e	2.227def	21.70bc	4.705e	54g	83fg	0.2345cd
150	0	4.50g	8.67j	17.69j	1.980g	8.98f	1.957g	22.07ab	3.148g	41i	81h	0.2167e
	150	4.82fg	9.17i	25.24h	2.660e	10.11e	2.470bcd	20.97cde	3.989f	53g	83fg	0.2445c
	300	5.38e	10.13g	22.55i	2.131fg	9.45ef	2.163efg	19.80f	3.663f	46h	82gh	0.2924a

STI: Stress Tolerance Index

حروف مختلف در هر ستون براساس آزمون LSD، اختلاف معنى دار در سطح احتمال ۵ درصد را نشان مى دهند.

In each column, different letters show significant difference at 5% of probability level based on LSD test.

جدول ۴- تاثير تنش شورى بر ويژگى هاى مورفوفيزيولوژيكي گياه تره ايرانى

Table 4- Theeffect of salinity stress on the morphophysiological characteristics of Persian leek

شورى (mM)	ارتفاع گياه Plant height (cm)	تعداد برگ Nnumber of leaves	حجم ريشه Root volume (cm ³)	وزن تر ريشه Root fresh weight (g)	نسبت اندام هوايى به اندام زير زمينى	درصد ماده خشك percentage of dry matter	نشت الكتروليت Electrolyte leakage (%)	مالون دى آلدئيد Malondialdehyde (mg.g ⁻¹ FW)	كلروفيل a Chlorophyll a (mg.g ⁻¹ FW)	كلروفيل b Chlorophyll b (mg.g ⁻¹ FW)	كاروتنوئيد Carotenoid (mg.g ⁻¹ FW)	كلروفيل كل Total chlorophyll (mg.g ⁻¹ FW)	شاخص ثبات كلروفيل CSI (%)	پراكسيداز Peroxidase (μmol.min ⁻¹ .g ⁻¹ FW)
0	58.7a*	6.22a	73.44a	68.06a	0.522a	10.60c	22c	0.0374d	4.704a	1.885a	1.715a	6.589a	111a	3.576c
50	51.5b	4.56b	56.2b	62.81b	0.417b	9.95d	22c	0.0671c	3.468b	1.302b	1.270b	4.770b	81b	4.226b
100	47.2c	4.67b	36.11c	35.78c	0.353c	12.1b	26b	0.0896b	3.454b	1.257b	1.214bc	4.711b	80b	4.213b
150	44.2d	4.22b	22.1d	24.520d	0.389b	14.46a	34a	0.1350a	3.306b	0.979c	1.110c	4.286c	73c	5.026a

CSI: Chlorophyll stability index

حروف مختلف در هر ستون براساس آزمون LSD، اختلاف معنى دار در سطح احتمال پنج درصد را نشان مى دهند.

In each column, different letters show significant difference at 5% of probability level based on LSD test.

جدول ۵- تأثیر نانوذرات مس بر ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیکی گیاه تره ایرانی

Table 5- The effect of copper nanoparticles on the morphophysiological characteristics of Persian leek

نانوذرات مس NP-Cu (mg.l ⁻¹)	ارتفاع گیاه Plant height (cm)	حجم ریشه Root volume (cm ³)	وزن تر ریشه Root fresh weight (g)	نشت الکترولیت Electrolyte leakage (%)	مالون دی‌آلدئید Malondialdehyde (mg.g ⁻¹ FW)	کلروفیل a Chlorophyll a (mg.g ⁻¹ FW)	کلروفیل b Chlorophyll b (mg.g ⁻¹ FW)	کاروتنوئید Carotenoid (mg.g ⁻¹ FW)	کلروفیل کل Total chlorophyll (mg.g ⁻¹ FW)	شاخص ثبات کلروفیل CSI (%)	پراکسیداز Peroxidase ($\mu\text{mol.min}^{-1}\text{g}^{-1}\text{FW}$)
0	46.83a*	49.17a	50.269a	28a	0.0927a	3.207c	1.201c	1.107c	4.408c	75c	3.423c
150	50.81b	44.67b	45.448b	23c	0.0746b	4.421a	1.544a	1.549a	5.965a	101a	4.998a
300	53.54c	47.08c	47.662c	26b	0.0795b	3.571b	1.323b	1.326b	4.894b	83b	4.360b

CSI: Chlorophyll stability index

* حروف مختلف در هر ستون براساس آزمون LSD، اختلاف معنی دار در سطح احتمال پنج درصد را نشان می‌دهند.

* In each column, different letters show significant difference at 5% of probability level based on LSD test.

را نشان داد، اما هر سه سطح شوری (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار) موجب افزایش وزن خشک اندام هوایی شد. در بین غلظت‌های استفاده شده نیز غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر نیز تأثیر بیشتری در افزایش شاخص‌های فوق داشت. به‌طور کلی، شاهد بیشترین وزن تر (۷۴/۶۶ گرم) و خشک (۵/۸ گرم) اندام هوایی را نشان داد. تیمار تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم بدون نانوذرات نیز کمترین وزن تر (۱۷/۶۹ گرم) و خشک (۱/۹۷ گرم) اندام هوایی را داشت (جدول ۳). نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که اثر متقابل تنش شوری و نانوذرات مس بر وزن تر و خشک پیاز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که وزن تر و خشک پیاز گیاه تره ایرانی با اعمال تنش شوری کاهش نشان داد، به‌طوری‌که در سطح شوری ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم به‌ترتیب کاهش ۳۵ و ۳۲/۹۸ درصدی در وزن تر و خشک پیاز گیاه تره ایرانی مشاهده شد. کاربرد نانوذرات مس نیز در سطح بدون تنش شوری منجر به کاهش وزن تر و خشک پیاز شد. با این حال، استفاده از نانوذرات به‌خصوص در غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر در سطوح مختلف شوری (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار) باعث افزایش شاخص‌های مورد نظر شد. در بین تیمارهای آزمایشی، شاهد بیشترین وزن تر (۱۳/۸ گرم) و خشک (۲/۹۱۲ گرم) پیاز را نشان داد. سطح شوری ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم بدون نانوذرات نیز کمترین مقدار وزن تر (۸/۹۷۷ گرم) و خشک (۱/۹۵۷ گرم) ریشه را ثبت کرد (جدول ۳).

نتایج پژوهش وجودی مهرابی و همکاران (Vojodi Mehrabani et al., 2018) روی تره ایرانی نیز نشان داد که تنش شوری موجب کاهش زیست‌توده گیاه تره ایرانی شد که با نتایج این پژوهش هم‌خوانی دارد. کاهش وزن تر اندام در هنگام تنش شوری به‌علت

نتایج پژوهش روی گیاه گوجه فرنگی (Pérez-Labrada et al., 2019; Hernandez-Hernandez et al., 2018) نشان داده است که کاربرد نانوذرات مس باعث افزایش ارتفاع بوته، قطر ساقه و تعداد برگ در گیاهان تحت تنش شوری شد که با نتایج پژوهش حاضر هم‌خوانی دارد. پیام‌رسانی هورمون‌های گیاهی نقش مهمی در تعدیل گیاه و پاسخ به سازگاری تنش خشکی و شوری دارد. اکسین در تنظیم شوری گیاهان و واکنش تطبیقی تنش خشکی بسیار مهم است و به‌عنوان یک پیام‌رسان شیمیایی، بیان ژن را از طریق خانواده‌ای از فاکتورهای رونویسی (فاکتورهای پاسخ اکسین ARFs) متصل‌شونده به DNA متمایز از نظر عملکردی، تحت تأثیر قرار می‌دهد. از طرفی، فاکتورهای پاسخ اکسین (ARFs) نقش مهمی در ایجاد پاسخ‌های اکسین دارند و چندین فرآیند بیولوژیکی مانند قطبیت اندام، گسترش برگ، پیری، رشد ریشه، رشد گل و رشد میوه را تنظیم می‌کند. بنابراین عنصر مس با تنظیم و تعدیل اکسین بر رشدونمو گیاه تأثیر می‌گذارد (Raza et al., 2022). همچنین مس با تأثیر بر متابولیسم نیتروژن و در نتیجه با تولید اسید آمینه تریپتوفان و تولید اکسین باعث افزایش ارتفاع گیاه می‌شود (Hernandez-Hernandez et al., 2018).

اثر متقابل تنش شوری و نانوذرات مس در سطح احتمال یک درصد بر وزن تر و خشک اندام هوایی تأثیر معنی‌داری داشت (جدول ۱). مقایسه میانگین اثر متقابل نشان داد که وزن تر و خشک اندام هوایی با افزایش سطح تنش شوری کاهش یافت و در غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم به‌ترتیب در وزن تر و خشک اندام هوایی کاهش ۷۶/۳۰ و ۶۶ درصد مشاهده شد. کاربرد نانوذرات مس در سطح بدون شوری کلرید سدیم کاهش وزن تر و خشک اندام هوایی

افزايش وزن خشك ريشه نشان داد، هر چند در سطوح شورى ۱۰۰ و ۱۵۰ ميلي مولار اختلاف معنى دارى با غلظت ۳۰۰ ميلي گرم در ليتر نشان نداد. در مجموع، بيشترين وزن خشك ريشه در شاهد (۸/۴۶ گرم) و كمترين مقدار آن در سطح شورى ۱۵۰ ميلي مولار كلريد سديم و عدم محلول پاشى نانوذرات مس (۳/۱۴ گرم) به دست آمد (جدول ۳). نتايج مقايسه ميانگين داده ها نشان داد كه تنش شورى باعث كاهش نسبت اندام هوايى به اندام زيرزمينى شد و در سطح ۱۵۰ ميلي مولار، كاهش ۲۴/۴ درصدى در شاخص مذكور در مقايسه با شاهد شد (جدول ۳).

نتايج تجزيه واريانس داده ها (جدول ۱) نشان داد كه اثر متقابل تنش شورى و نانوذرات مس در سطح احتمال يك درصد بر طول ريشه گياه تره ايرانى تاثير معنى دارى داشت. مقايسه ميانگين داده ها نشان داد كه با افزايش سطح تنش شورى، طول ريشه افزايش يافت و در سطح شورى ۱۰۰ ميلي مولار باعث افزايش ۱۱/۹۶ درصدى در مقايسه با شاهد شد. محلول پاشى نانوذرات مس در سطح بدون تنش باعث افزايش طول ريشه شد، اما در سطوح تنش شورى كلريد سديم (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ ميلي مولار) باعث كاهش طول ريشه در گياه تره فرنگى شد. در مجموع، تيمار شورى ۱۰۰ ميلي مولار كلريد سديم بدون نانوذرات، بيشترين طول ريشه (۲۲/۴۶ سانتى متر) را نشان داد. همچنين غلظت ۱۵۰ ميلي گرم در ليتر نانوذرات در سطوح تنش شورى ۵۰ و ۱۰۰ ميلي مولار نيز كمترين (به ترتيب ۱۹/۶ و ۱۹/۸ سانتى متر) مقدار شاخص مذكور را ثبت كردند (جدول ۳). نتايج تجزيه واريانس داده ها نشان داد كه اثر ساده تنش شورى و نانوذرات مس در سطح احتمال يك درصد بر حجم ريشه تاثير معنى دارى داشت، ولى اثر متقابل تنش شورى و نانوذرات مس بر اين ويژگى معنى دار نبود (جدول ۱). مقايسه ميانگين داده ها نشان داد كه با افزايش سطح شورى كلريد سديم به شدت از حجم ريشه كاسته شد، به طورى كه در سطح ۱۵۰ ميلي مولار شورى، كاهش ۶۹/۸۹ درصدى در مقايسه با شاهد نشان داد (جدول ۴). با اين وجود، كاربرد نانوذرات مس موجب افزايش حجم ريشه نسبت به شاهد شد و در غلظت ۱۵۰ ميلي گرم در ليتر عملکرد بهترى (۱۰ درصد افزايش در مقايسه با شاهد) نشان داد (جدول ۵).

افزايش رشد ريشه گياهان مختلف از جمله تره ايرانى (*Allium ampeloprasum* var. *porrum* Gay) (Vojodi Mehrabani et al., 2018) با كاربرد نانوذرات مس گزارش شده است. ريشه، وظيفه جذب آب و مواد غذايى را برعهده دارد و تنش شورى از ناحيه ريشه به گياه وارد مى شود، بنابراين ريشه اولين اندامى است كه با تنش شورى مواجه مى شود و با توجه به تنظيم اسمزى و شيوه هاى اجتنابى كه در جهت كاهش اثر شورى انجام مى دهد. ريشه مقدار زيادى انرژى از اندام هاى هوايى دريافت مى كند كه صرف مقابله با تنش شورى مى نمايد، اين عمل باعث كاهش كارآيى ريشه در تأمين عناصر غذايى

افزايش غلظت نمك هاى محلول محيط رشد ريشه مى باشد كه سبب منفى تر شدن پتانسيل اسمزى محيط و در نتيجه، كاهش جذب آب شده كه در نهايت، منجر به كاهش سطح سطح برگ، سرعت فتوسنتز و هدايت روزنه اى مى شود (Raza et al., 2022). از ديگر دلايل كاهش رشدونمو گياه تحت تنش شورى، افزايش مصرف انرژى در گياه به منظور خروج يون هاى سديم است (Arvin, 2015). نتايج نشان داد كه كاربرد نانوذرات مس، اثر منفى تنش شورى را بهبود بخشد و سبب افزايش وزن تر و خشك بوته و پياز (*Allium cepa*) شد. نومان و همكاران (Noman et al., 2021) روى گياه ذرت و وجودى مهرابى و همكاران (Vojodi Mehrabani et al., 2018) روى گياه تره ايرانى گزارش كردند كه كاربرد نانوذرات مس باعث افزايش زيبست توده گياهان (وزن تر شاخساره) تحت شرايط تنش شورى شده است كه با نتايج اين پژوهش هم خوانى دارد. عوامل متعددى مانند كاهش فتوسنتز، تحريب غشاء سلولى، كاهش آب در دسترس گياهان و تجمع Na^+ در برگ ها از عوامل اصلى كاهش وزن در شرايط شورى است، كه اين افزايش رشد ناشى از كاربرد نانوذرات مس مى تواند به دليل تنظيم مثبت تنش اكسيداتيوى و تنش يونى ناشى از شورى باشد (Choudhary et al., 2017). بنابراين، نانوذرات مس با افزايش سطح آنتى اكسيدان هاى سلولى (آنزيمى و غير آنزيمى) باعث غربال گونه هاى فعال اكسيژن شده و در نتيجه، تنش اكسيداتيوى را كاهش مى دهند (Noman et al., 2021).

نتايج تجزيه واريانس داده ها نشان داد كه اثر ساده تنش شورى و نانوذرات مس در سطح احتمال يك درصد بر وزن تر ريشه و نسبت اندام هوايى به اندام زيرزمينى تاثير معنى دارى داشت، ولى اثر متقابل تنش شورى و نانوذرات مس معنى دار نبود (جدول ۱). مقايسه ميانگين اثر ساده نشان داد كه وزن تر ريشه با افزايش سطح تنش شورى كاهش پيدا كرد و در سطح شورى ۱۵۰ ميلي مولار باعث كاهش ۶۳/۹۷ درصدى در وزن تر ريشه در مقايسه با شاهد شد (جدول ۲). محلول پاشى نانوذرات مس موجب افزايش وزن تر ريشه نسبت به شاهد شد و در غلظت ۱۵۰ ميلي گرم در ليتر، عملکرد بهترى (۱۰/۶ درصد افزايش در مقايسه شاهد) به همراه داشت (جدول ۵). همچنين نتايج جدول تجزيه واريانس نشان داد كه اثر متقابل تنش شورى و نانوذرات مس در سطح احتمال يك درصد بر وزن خشك ريشه گياه تره ايرانى معنى دار شد (جدول ۱). مقايسه ميانگين داده ها نشان داد كه وزن خشك ريشه گياه تره ايرانى با افزايش سطح تنش شورى كاهش پيدا كرد، به طورى كه در سطح ۱۵۰ ميلي مولار شورى كلريد سديم، كاهش ۶۲/۸۸ درصدى نسبت به شاهد نشان داد. كاربرد نانوذرات مس در سطوح تنش شورى (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ ميلي مولار) موجب افزايش وزن خشك ريشه شد، اما در سطح شاهد (بدون تنش شورى) كاهش شاخص مذكور را نشان داد. غلظت ۱۵۰ ميلي گرم در ليتر نانوذرات مس نيز در سطوح مختلف، تاثير به نسبت بهترى روى

و آب برای سایر اندام‌ها می‌شود. مجموع این عوامل، کاهش رشد ریشه را به دنبال خواهد داشت (Raza et al., 2022). کاهش طول ریشه و اندام هوایی نیز در شرایط تنش اسمزی، می‌تواند به علت کاهش جذب آب، ترشح هورمون‌ها و فعالیت آنزیم‌ها و همچنین اختلال در فتوسنتز و رشد ریشه و اندام هوایی باشد. در شرایط تنش، مقدار پروتئین‌های دیواره سلولی که در طول شدن و رشد سلول نقش دارند، کاهش یافته و در نتیجه، موجب کاهش طول ریشه‌چه و اندام هوایی می‌گردد (Zhang et al., 2014). همچنین در دراز مدت، به دلیل سمیت یونی ناشی از تجمع بیش از حد نمک‌ها در سیتوپلاسم، واکوئل‌ها قادر به حذف نمک اضافی نخواهند. سمیت سدیمی نیز باعث جذب بیشتر یون شده و pH ریزوسفر را به دلیل کربنات‌ها و بی‌کربنات‌هایی که مانع جذب مواد مغذی می‌شوند، افزایش می‌دهد. تحت چنین شرایط شوری، رشد ریشه به شدت کاهش می‌یابد و رشد اندام هوایی متوقف می‌شود (Raza et al., 2022).

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تنش شوری و نانوذرات مس در سطح احتمال یک درصد بر درصد ماده خشک تأثیر معنی‌داری داشت، ولی اثر متقابل تنش شوری و نانوذرات مس بر آن‌ها معنی‌دار نبود (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که درصد ماده خشک گیاهی با اعمال تنش شوری افزایش یافت و در سطح ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم منجر به افزایش ۳۶/۴ درصد در شاخص مذکور شد (جدول ۴).

افزایش تولید ماده خشک تابع وجود آب قابل وصول در محیط ریشه و در نتیجه، انتقال عناصر غذایی لازم از ریشه به برگ‌ها و در نهایت، بهبود فتوسنتز در شرایط بهینه است. یکی از اثرات تنش شوری، محدودیت میزان توسعه برگ و کاهش میزان رشد برگ‌ها به دلیل کم شدن میزان تقسیم سلولی و یا کاهش طول شدن سلول‌هاست که می‌تواند تجمع ماده خشک و عملکرد گیاه را تحت تأثیر قرار دهد (Gorgini Shabankareh et al., 2021; Kapoor et al., 2020). مطالعات افزایش (Fattahi et al., 2021) و کاهش (Nabati et al., 2012) درصد ماده خشک گیاهی در گونه‌های مختلف گیاهی را در تنش شوری گزارش کردند. افزایش درصد ماده خشک در گیاهان تحت تنش شوری می‌تواند به دلیل انباشت یون‌های سمی در برگ باشد که منجر به انتقال آب به طرف برگ‌ها جهت حفظ تعادل اسمزی و عدم آسیب به سلول می‌شود (Abdel-Salam et al., 2018).

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد (جدول ۲) که اثرات تنش شوری و نانوذرات مس و همچنین اثر متقابل آن‌ها روی شاخص مقاومت به تنش معنی‌دار شده است. بررسی میانگین داده‌ها نشان داد که اعمال تنش شوری باعث کاهش قابل توجهی در شاخص مقاومت به تنش در گیاهان تره ایرانی شد و در سطح ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم، کاهش ۵۹ درصدی در مقایسه با شاهد نشان داد. از طرفی دیگر، در

سطح غیر تنش، کاربرد نانوذرات مس نیز باعث کاهش شاخص مقاومت به تنش در گیاهان تحت تیمار شد، اما در سطوح تنش شوری مختلف استفاده از نانوذرات مس باعث افزایش در شاخص مورد نظر شد، به طوری که در غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر در سطح تنش ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم باعث افزایش ۱۲ درصدی در شاخص مقاومت به تنش نسبت به تیمار شوری ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم به نانوذره شد (جدول ۳).

تنش شوری از طریق اختلال در فرآیندهای فیزیولوژیکی (تبادلات گازی و رفتار روزنه‌ای) و بیوشیمیایی گیاه و همچنین دفاع آنتی‌اکسیدانی در نتیجه تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن، مقاومت گیاهان را کاهش می‌دهد (Guzman & Marques, 2023; Acosta-Motos et al., 2017). با این حال، تأثیر نانوذرات اکسید مس در افزایش مقاومت به تنش در گیاهان را می‌توان مرتبط با نقش این عنصر در بسیاری از آنزیم‌ها مانند سوپراکسید دیسموتاز (Cu/Zn SOD)، سیتوکروم C اکسیداز، آمینو اکسیداز، پلاستوسیانین و پلی فنل اکسیداز و همچنین غربال گونه‌های فعال اکسیژن با افزایش فعالیت برخی آنزیم‌ها از جمله سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز دانست (Tabatabaee et al., 2021; Thounaojam et al., 2012).

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که اثر متقابل تنش شوری و نانوذرات مس بر محتوای نسبی آب برگ تأثیر معنی‌داری داشت. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که با افزایش سطح تنش شوری، از محتوای نسبی آب کاسته شد و در سطح ۱۵۰ میلی‌مولار، کاهش ۱۰/۷۳ درصدی نسبت به شاهد نشان داد. کاربرد نانوذرات مس در سطح بدون تنش شوری، کاهش محتوای نسبی آب را نشان داد، اما در سطوح تنش شوری (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار) باعث افزایش محتوای نسبی آب برگ شد و در غلظت‌های استفاده شده، غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر تأثیر بهتری در افزایش شاخص مربوطه به همراه داشت. بیشترین محتوای نسبی آب برگ در شاهد (۹۰/۹۱ درصد) و کمترین مقدار آن نیز در سطح شوری ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم بدون نانوذرات (۸۱/۱۵ درصد) به دست آمد (جدول ۳). بررسی نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که تنش شوری و نانوذرات مس در سطح احتمال یک درصد بر نشت الکترولیت و غلظت مالون دی‌آلدئید تأثیر معنی‌داری داشت، اما اثر متقابل تنش شوری و نانوذرات مس بر معنی‌دار نبود. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که با افزایش سطح شوری کلرید سدیم، میزان نشت الکترولیت و غلظت مالون دی‌آلدئید نیز افزایش یافت، به طوری که در سطح شوری ۱۵۰ میلی‌مولار بیشترین میزان نشت الکترولیت و غلظت مالون دی‌آلدئید (به ترتیب ۵۴/۷۳ و ۲۶۴ درصد افزایش در مقایسه با شاهد) به دست آمد (جدول ۴). با این حال، محلول‌پاشی نانوذرات مس سبب کاهش نشت الکترولیت و غلظت مالون دی‌آلدئید شد، هر چند با افزایش غلظت تأثیر کاهش‌ی نشان داد، به طوری که در غلظت ۱۵۰

تنش شورى كلريد سدیم از مقدار كلروفیل a، كلروفیل b، كارتنوئید و كلروفیل كل كاسته شد، به طوری كه تنش ۱۵۰ میلی مولار كلريد سدیم به ترتیب باعث کاهش ۲۹/۷۸، ۴۷/۸۷، ۳۵/۴۶ و ۳۴/۹۰ درصدی در مقدار كلروفیل a، كلروفیل b، كارتنوئید و كلروفیل كل شد (جدول ۴). کاربرد نانوذرات مس موجب افزایش غلظت رنگیزه های فتوسنتزی شد و در غلظت ۱۵۰ میلی گرم در لیتر به ترتیب سبب ۳۸/۱۲، ۲۸/۳۳، ۴۰/۹۰ و ۳۵/۶۸ درصد افزایش در مقدار كلروفیل a، كلروفیل b، كارتنوئید و كلروفیل كل شد (جدول ۵). همچنین نتایج مقایسه میانگین داده ها نشان داد كه شاخص ثبات كلروفیل با افزایش سطح تنش شوری کاهش یافت و سطح شوری ۱۵۰ میلی مولار باعث کاهش ۵۰ درصدی در شاخص مذکور شد (جدول ۴). با این حال، کاربرد نانوذرات مس، افزایش شاخص ثبات كلروفیل را به دنبال داشت و در غلظت ۱۵۰ میلی گرم در لیتر باعث افزایش ۳۴/۶ درصد در شاخص مربوطه شد (جدول ۵).

كلروفیل برگ یکی از مهم ترین ویژگی های فیزیولوژیکی می باشد كه نشان دهنده شرایط مطلوب گیاه بوده كه به آب قابل دسترس گیاه و سطح تغذیه بستگی دارد (Farouk & Al-Amri, 2019). تحقیقات روی گیاهان تره ايرانى، کاهش محتوای كلروفیل a، b و كلروفیل كل را تحت شرایط تنش شوری گزارش كردند (Vojodi Mehrabani et al., 2017; Akbari et al., 2011; et al., 2018)، كه با نتایج این پژوهش همخوانی دارد. کاهش مقدار رنگیزه های فتوسنتزی در شرایط تنش، می تواند به دلیل تخریب ساختمان كلروپلاست و دستگاه فتوسنتزی، اكسیداسیون نوری كلروفیل ها، واكنش آن ها با اكسیژن یكتایی، تخریب پیش ماده های سنتز كلروفیل و ممانعت از بیوسنتز كلروفیل های جدید و فعال شدن آنزیم های تجزیه كننده كلروفیل از جمله كلروفیلاز و اختلالات هورمونی باشد (Farouk & Al-Amir, 2019). تنش شوری با افزایش فعالیت آنزیم های پروتئولیتیک مانند كلروفیلاز، جایگزینی یون منیزیم موجود در ساختار كلروفیل با یون سدیم و كلر، کاهش آمینولولنیک اسید سنتتاز و روبیسكو، رشد گیاهان را تحت تأثیر قرار می دهد (Radi et al., 2013). نتایج پژوهش هرنلندز-هرنلندز و همكاران (Hernandez-Hernandez et al., 2018) روی گوجه فرنگی نشان داد كه استفاده از نانوذرات مس باعث افزایش غلظت كلروفیل در گیاهان تحت تنش شوری شد كه با نتایج این پژوهش همخوانی دارد. با این وجود، پرز-لابرادا و همكاران (Pérez-Labrada et al., 2019) روی گیاه گوجه فرنگی نشان داد كه کاربرد نانوذرات مس باعث کاهش كلروفیل a، b، كلروفیل كل تحت تنش شوری شد. مطالعات نشان داده است كه عنصر مس به دلیل نقش مؤثری كه در تولید تعداد زیادی از آنزیم ها دارد، عملكردهای متابولیکی متفاوتی در گیاه می تواند داشته باشد، هر چند غلظت بالای این عنصر اثر منفی بر رشد گیاه دارد (Siddiqi et al., 2020).

میلی گرم در لیتر، كمترین درصد نشست الكترولیت و مقدار مالون دی آلدئید (به ترتیب ۱۶/۸ و ۲۹/۵ درصد كمتر از شاهد) را نشان داد (جدول ۵).

محتوای نسبی آب از چند طریق بر فیزیولوژی سلول از جمله تغییر در موقعیت های اندامك بین سلولی، كانال های انتقال مواد و بیوشیمی آنزیم ها مثل انقباض دیواره سلولی تأثیر می گذارد. واضح است كه این تغییرات بر متابولیسم سلولی از جمله فتوسنتز تأثیر می گذارد (Lawlor & Cornic, 2002). غلظت بالای سدیم در سلول های گیاهی با ایجاد اختلال در تعادل اسمزی و خشکی فیزیولوژیکی، مانع از جذب آب در گیاه می گردد و منفی تر شدن پتانسیل آب برگ را در پی دارد (Zhang et al., 2014)، در نتیجه به واسطه اختلال در فرآیند انتقال الكترون در كلروپلاست و میتوكوندري، مقادیر بالای از گونه های فعال اكسیژن تولید می شود كه باعث پراكسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع غشاء لیپیدی و به دنبال آن تخریب تمامیت غشاء سلولی می شود (Zhang et al., 2014). در نتیجه این فرآیندها، غلظت مالون دی آلدئید و نشست یونی افزایش یافته و محتوای نسبی آب کاهش می یابد. نتایج پژوهش اكبری و همكاران (Akbari et al., 2011) روی تره ايرانى نشان داد كه تنش شوری موجب افزایش محتوای نسبی آب تره ايرانى شد كه با نتایج این پژوهش همخوانی داشت. وجودی مهربانی و همكاران (Vojodi Mehrabani et al., 2017) در بررسی تأثیر تنش شوری (صفر، ۴۰، ۸۰، ۱۲۰ و ۱۶۰ میلی مولار كلريد سدیم) روی گیاه تره ايرانى (*Allium ampeloprasum* L.) گزارش كردند با افزایش سطح تنش شوری تجمع یون سدیم، نشست الكترولیت و غلظت مالون دی آلدئید در گیاهان افزایش یافت و در غلظت ۱۶۰ میلی گرم در لیتر بیشترین مقادیر شاخص های مذکور را نشان داد. مطالعات روی ذرت (Noman et al., 2021) و رزماری (Hejazi et al., 2012) نشان داد كه کاربرد نانوذرات مس باعث کاهش نشست الكترولیت و غلظت مالون دی آلدئید و افزایش محتوای نسبی آب برگ در گیاهان تحت تنش شوری شد كه با نتایج این پژوهش همخوانی دارد. تحقیقات نشان داده است كه عنصر مس به دلیل شركت در ساختار برخی آنزیم ها از جمله پلی فنل اكسیداز، سوپر اكسید دیسموتاز Zn/Cu و آسكوریات اكسیداز باعث افزایش فعالیت سیستم دفاع آنتی اكسیدانی آنزیمی شده و باعث حذف رادیکال های آزاد می شود، در نتیجه بهبود محتوای نسبی آب برگ و کاهش نشست الكترولیت و غلظت مالون دی آلدئید را به همراه دارد (Raza et al., 2022; Siddiqi et al., 2020).

نتایج تجزیه واریانس داده ها (جدول ۲) نشان داد كه تنش شوری و نانوذرات مس در سطح احتمال یک درصد بر كلروفیل a، كلروفیل b، كارتنوئید، كلروفیل كل و شاخص ثبات كلروفیل تأثیر معنی داری داشت، ولی اثر متقابل تنش شوری و نانوذرات مس بر این ویژگی معنی دار نبود. مقایسه میانگین داده ها نشان داد كه با افزایش سطح

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تنش شوری و نانوذرات مس در سطح احتمال یک درصد بر فعالیت آنزیم پراکسیداز تأثیر معنی‌داری داشت، ولی اثر متقابل تنش شوری و نانوذرات مس بر این ویژگی معنی‌دار نبود (جدول ۱). بررسی مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که فعالیت آنزیم پراکسیداز تحت تأثیر تنش شوری کلرید سدیم افزایش شد و در سطح شوری ۱۵۰ میلی‌مولار بیشترین (۴۰/۵۰ درصد) افزایش در مقایسه با شاهد (میزان فعالیت آنزیم مربوطه را نشان داد (جدول ۴). محلول پاشی نانوذرات مس نیز موجب افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز نسبت به شاهد شد و در غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر بالاترین (۱۶/۶ درصد) افزایش در مقایسه با شاهد (فعالیت آنزیم ثبت شد (جدول ۵).

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر متقابل تنش شوری و نانوذرات مس بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز تأثیر معنی‌داری داشتند (جدول ۱). بررسی مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که با افزایش سطح تنش شوری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز به‌طور قابل توجهی افزایش یافت و در سطح شوری ۱۵۰ میلی‌مولار، افزایش ۳۴ درصدی در مقایسه با شاهد نشان داد. کاربرد نانوذرات مس در سطوح مختلف شوری (صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار) باعث افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز شد، به‌طوری‌که در سطح تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر باعث افزایش ۹۳/۳۷ درصد در فعالیت آنزیم مذکور در مقایسه با شاهد (بدون شوری و نانوذرات) شد (جدول ۳).

به‌طور کلی در شرایط تنش شوری، رونویسی از برخی ژن‌های مربوط به آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند گلوتاتیون ردوکتاز یا آسکوربات پراکسیداز برای بهبود وضعیت گیاه در چنین شرایطی، افزایش پیدا می‌کند که نقش مهمی در کاهش گونه‌های اکسیژن فعال و آسیب‌های ناشی از آن را ایفا می‌کند (Raza et al., 2022). با توجه به سمیت پراکسید هیدروژن برای سلول‌های گیاهی از جمله کلروپلاست و حضور کاتالاز در پراکسی‌زوم‌ها، فعالیت آنزیم پراکسید و آسکوربات پراکسیداز می‌تواند نقش مهمی در غربال پراکسید هیدروژن داشته باشد. در مطالعه حاضر، فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز تحت تنش شوری افزایش یافت. تنش شوری باعث تجمع گونه‌های اکسیژن فعال از جمله پراکسید هیدروژن (H_2O_2) در سلول‌های گیاهی می‌شود. متابولیسم H_2O_2 وابسته به عملکرد آنزیم‌های مختلف آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در سلول‌های گیاهی است (Siddiqi et al., 2020). محلول پاشی نانوذرات مس باعث افزایش سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی آنزیمی شامل فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز شد. در تحقیقات گذشته نیز افزایش فعالیت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی آنزیمی از جمله پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در گیاهان ذرت

(Noman et al., 2021) و گوجه‌فرنگی (Pérez-Labrada et al., 2019) تحت شرایط تنش شوری گزارش شده است که با نتایج پژوهش حاضر هم‌خوانی دارد. کاربرد نانوذرات مس موجب تولید سریع‌تر و کارآمدتر گونه‌های اکسیژن فعال و فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌شود، زیرا توسط فضاهای متخلخل جذب شده و از دیواره سلولی عبور می‌کنند. پس از ورود به داخل سلول، نانوذرات (با بار منفی) به قسمت بیرونی غشاء سلولی (بارهای مثبت غشاء) طی برهم‌کنش الکترواستاتیکی متصل می‌شوند. در نهایت، نانوذرات توسط پتانسیل غشای پلاسمایی در سیتوسل، پلاستیدها، واکوئل یا هسته پخش می‌شود (Da Costa & Sharma, 2016). بنابراین، ورود نانوذرات باعث تنش اکسیداتیو می‌شود که در نتیجه، سازوکارهای آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی فعال می‌شوند و تحمل گیاه را به تنش شوری افزایش می‌دهند (Da Costa & Sharma, 2016). از طرفی دیگر، پراکسید هیدروژن، گونه‌ای فعال اکسیژن تولید شده در پاسخ به شرایط تنش است که از کاتالیز رادیکال آزاد سوپراکسید به‌وسیله فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز تولید شده و در نهایت، توسط برخی آنزیم‌ها از جمله کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز به آب و اکسیژن تجزیه می‌شود (Noman et al., 2021). در کل، پاسخ گیاهان به شوری شامل تعدیل هموستاز یونی، القای سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی و بیوسنتز فیتوهورمون‌های متعدد و محافظت‌کننده‌های اسمزی در برابر تنش اسمزی با کاهش سمیت یونی و افزایش مهار گونه‌های اکسیژن فعال همراه است. از آنجایی که اکثر گیاهان به شوری حساس هستند، بهبود تحمل به نمک از طریق تعدیل‌کننده‌های تنش در حفظ بهره‌وری کشاورزی جهانی بسیار مهم است (Raza et al., 2022).

نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که افزایش تنش شوری با افزایش نشت الکتروولت و کاهش محتوای نسبی آب برگ باعث کاهش رشد گیاه تره‌فرنگی شد. هر چند درصد ماده خشک و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مثل پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز را اندکی افزایش داد. اگرچه اثرات نانوذرات مس در گیاهان شاهد (سطح بدون تنش) مثبت نبود، اما تحت شرایط تنش و به‌خصوص در غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر با افزایش فعالیت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و بهبود روابط آبی گیاه، مقاومت گیاهان به تنش شوری را افزایش و تأثیر منفی تنش روی شاخص‌های مورفولوژی (قطر پیاز، وزن تر و خشک لندام هوایی و پیاز) گیاه تره ایرانی را کاهش داد. بنابراین، کاربرد نانوذرات مس زمانی که گیاه در معرض انواع تنش‌های مختلف قرار می‌گیرد، شایسته توجه بیشتری است.

References

- 1- Abdelraheem, A., Esmacili, N., O'Connell, M., & Zhang, J. (2019). Progress and perspective on drought and salt stress tolerance in cotton. *Industrial Crops and Products*, 130, 118-129. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.12.070>
- 2- Abdel-Salam, E., Alatar, A., & El-Sheikh, M. A. (2018). Inoculation with arbuscular mycorrhiza fungi alleviates harmful effects of drought stress on damask rose. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25, 1772-1780. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2017.10.015>
- 3- Acosta-Motos, J.R., Maria Fernanda, O., Agustin, B., Pedro, D.V., Maria, J.B., & Jose Antonio, H. (2017). Plant responses to salt stress: Adaptive mechanisms. *Agronomy*, 7(1), 18. <https://doi.org/10.3390/agronomy7010018>
- 4- Akbari, S., Dashti, F., & Gholami, M. (2011). *Effect of salinity stress on performance and some biochemical and physiological characteristics of Iranian leek*. 7th Congress of Iranian Horticultural Science, Isfahan, Iran. (In Persian with English abstract). <https://civilica.com/doc/174155>
- 5- Arvin, P. (2015). Effect of gibberellin on some morphological traits, photosynthetic pigments content and proline in savory (*Satureja hortensis* L.) under salinity stress conditions. *Journal of Agricultural Research*, 7(2), 90-104.
- 6- Betran, F.J., Beck, D., Banziger, M., & Edmeades, G.O. (2003). Secondary traits in parental inbreds and hybrids under stress and nonstress environments in tropical maize. *Field Crops Research*, 83, 51-65. [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(03\)00061-3](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(03)00061-3)
- 7- Choudhary, R.C., Kumaraswamy, R.V., Kumari, S., Sharma, S.S., Pal, A., Raliya, R., & Saharan, V. (2017). Cu-chitosan nanoparticle boost defense responses and plant growth in maize (*Zea mays* L.). *Scientific Reports*, 7(1), 9754. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-08571-0>
- 8- Croser, C., Renault, S., Franklin, J., & Zwiazek, J. (2001). The effect of salinity on the emergence and seedling growth of *Picea morian*, *Picea glauca* and *Pinus banksiana*. *Environmental Pollution*, 115, 6-16. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(01\)00097-5](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(01)00097-5)
- 9- Da Costa, M.V.J., & Sharma, P.K. (2016). Effect of copper oxide nanoparticles on growth, morphology, photosynthesis, and antioxidant response in *Oryza sativa*. *Photosynthetica*, 54, 110-119. <https://doi.org/10.1007/s11099-015-0167-5>
- 10- Della Maggiora, L., Francini, A., & Giovannelli, A. (2023). Assessment of the salinity tolerance, response mechanisms and nutritional imbalance to heterogeneous salt supply in *Populus alba* L. clone 'Marte' using a split-root system. *Plant Growth Regul*, 101, 251-265. <https://doi.org/10.1007/s10725-023-01017-w>
- 11- 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>
- 12- Fattahi, M., Mohammadkhani, A., Shiran, B., Baninasab, B., & Ravash, R. (2021). Investigation of phosphorus use efficiency and drought and salinity stress resistance index in pistachio rootstocks coexisted with mycorrhiza arbuscular. *Plant Productions*, 44(4), 587-600. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22055/ppd.2020.33219.1894>
- 13- Fischer, R.A., & Maurer, R. (1998). Drought resistance in spring wheat cultivars. I. Grain yield responses. *Australian Journal of Agricultural Research*, 29, 897-912. <https://doi.org/10.1071/AR9780897>
- 14- Gholamzadeh Alam, A., Mousavi-Fard, S., & Rezaei Nejad, A. (2022). Morphological and physiological characteristics for evaluation of salicylic acid effects on *Celosia argentea* L. under salinity stress. *Iranian Journal of Plant Physiology*, 12(1), 4027-4037. <https://doi.org/10.30495/ijpp.2022.689078>
- 15- Gorgini Shabankareh, H., Khorasaninejad, S., & Soltanloo, H. (2021). Physiological response and secondary metabolites of three lavender genotypes under water deficit. *Scientific Reports*, 11(1), 19164. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-98750-x>
- 16- Guzman, M.R., & Marques, I. (2023). Effects of salinity on edible marigold flowers (*Tagetes patula* L.). *Biology Life Science Forum*, 27, 38. <https://doi.org/10.3390/IECAG2023-15986>
- 17- Hejazi, M. M., Shariatmadari, H., Khoshgoftarmanesh, A. H., & Dehghani, F. (2012). Copper effects on growth, lipid peroxidation, and total phenolic content of rosemary leaves under salinity stress. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 14, 205-212.
- 18- Hernandez-Hernandez, H., Juárez-Maldonado, A., Benavides-Mendoza, A., Ortega-Ortiz, H., Cadenas-Pliego, G., Sánchez-Aspeytia, D., & González-Morales, S. (2018). Chitosan-PVA and copper nanoparticles improve growth and overexpress the SOD and JA genes in tomato plants under salt stress. *Agronomy*, 8(9), 175. <https://doi.org/10.3390/agronomy8090175>
- 19- Jameetonga, A., & Brix, H. (2009). Effects of NaCl salinity on growth, morphology, photosynthesis and proline accumulation of *Salvinia natans*. *Aquatic Botany*, 3, 181-186. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2009.05.003>
- 20- Kapoor, D., Bhardwaj, S., Landi, M., Sharma, A., Ramakrishnan, M., & Sharma, A. (2020). The impact of drought in plant metabolism: how to exploit tolerance mechanisms to increase crop production. *Applied Sciences*, 10, 5692. <https://doi.org/10.3390/app10165692>

- 21- Lawlor, D.W., & Cornic, G. (2002). Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant Cell Environment*, 25, 275–294. <https://doi.org/10.1046/j.0016-8025.2001.00814.x>
- 22- Lichtenthaler, H.K. (1987). Chlorophyll and carotenoids—pigments of photosynthetic biomembrances za Colowick SP, *Kaplan NO Methods in Enzymology*, Vol. 148.
- 23- 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>
- 24- MacAdam, J.W., Nelson, C.J., & Sharp, R.E. (1992). Peroxidase activity in the leaf elongation zone of tall fescue: I. Spatial distribution of ionically bound peroxidase activity in genotypes differing in length of the elongation zone. *Plant Physiology*, 99(3), 872–878. <https://doi.org/10.1104/pp.99.3.872>
- 25- Nabati, J., Kafi, M., Nezami, A., Rezvani Moghaddam, P., Masoumi, A., & Zare Mehrjerdi, M. (2012). Evaluation of quantitative and qualitative characteristic of forage kochia in different growth under salinity stress. *Journal of Crop Production*, 5(2), 111–128. (In Persian with English abstract). <http://dorl.net/dor/20.1001.1.2008739.1391.5.2.7.8>
- 26- Nakano, Y., & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, 22(5), 867–880. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a076232>
- 27- Noman, M., Ahmed, T., Shahid, M., Niazi, M.B.K., Qasim, M., Kouadri, F., & Ali, S. (2021). Biogenic copper nanoparticles produced by using the *Klebsiella pneumoniae* strain NST2 curtailed salt stress effects in maize by modulating the cellular oxidative repair mechanisms. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 217, 112264. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112264>
- 28- Osakabe, Y., Yamaguchi-Shinozaki, K., Shinozaki, K., & Tran, L.S.P. (2014). ABA control of plant macroelement membrane transport systems in response to water deficit and high salinity. *New Phytologist*, 202(1), 35–49. <https://doi.org/10.1111/nph.12613>
- 29- Panahandeh, J. (2015). Meiosis in persian leek *Allium ampeloprasum* ssp. persicum. In *VII International Symposium on Edible Alliaceae*, 1143, 23–26. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2016.1143.4>
- 30- Pérez-Labrada, F., López-Vargas, E.R., Ortega-Ortiz, H., Cadenas-Pliego, G., Benavides-Mendoza, A., & Juárez-Maldonado, A. (2019). Responses of tomato plants under saline stress to foliar application of copper nanoparticles. *Plants*, 8(6), 151. <https://doi.org/10.3390/plants8060151>
- 31- Radi, A.F. (2013). Physiological and biochemical responses of salt-tolerant and salt-sensitive wheat and bean cultivars to salinity. *Journal of Biology and Earth Sciences*, 3, 72–88.
- 32- Raza, A., Tabassum, J., Fakhar, A. Z., Sharif, R., Chen, H., Zhang, C., & Varshney, R.K. (2023). Smart reprograming of plants against salinity stress using modern biotechnological tools. *Critical Reviews in Biotechnology*, 43(7), 1035–1062. <https://doi.org/10.1080/07388551.2022.2093695>
- 33- 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>
- 34- Roozbahani, F., Mousavi-Fard, S., & Nejad, A.R. (2020). Effect of proline on some physiological and biochemical characteristics of two cultivars of *Impatiens walleriana* under salt stress. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 51(3), 537–550. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22059/ijhs.2019.279774.1632>
- 35- Safari, M., Mousavi-Fard, S., Rezaei Nejad, A., Sorkheh, K., & Sofo, A. (2022). Exogenous salicylic acid positively affects morpho-physiological and molecular responses of *Impatiens walleriana* plants grown under drought stress. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 19(2), 969–984. <https://doi.org/10.1007/s13762-020-03092-2>
- 36- Siddiqi, K.S., & Husen, A. (2020). Current status of plant metabolite-based fabrication of copper/copper oxide nanoparticles and their applications: A review. *Biomaterials Research*, 24(1), 1–15. <https://doi.org/10.1186/s40824-020-00188-1>
- 37- Starman, T., & Lombardini, L. (2006). Growth, gas exchange and chlorophyll fluorescence of four ornamental herbaceous perennials during water deficit conditions. *Journal American Horticultural Science*, 131(4), 475.
- 38- Tabatabaee S., Iranbakhsh, A., Shamili, M., & Oraghi Ardebili Z. (2021). Copper nanoparticles mediated physiological changes and transcriptional variations in microRNA159 (miR159) and mevalonate kinase (MVK) in pepper; potential benefits and phytotoxicity assessment. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(5), 106151. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.106151>
- 39- Thounaojam, T.C., Panda, P., Mazumdar, P., Kumar, D., Sharma, G.D., Sahoo, L., & Sanjib, P. (2012). Excess copper induced oxidative stress and response of antioxidants in rice. *Plant Physiology and Biochemistry*, 53, 33–39. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2012.01.006>
- 40- Vinaya Rai, R.S., & Parthiban, K.T. (1995). Studies on the drought tolerance of *Eucalyptus* at seedling stage. *Journal Tropical For Science*, 8(2), 155–160. <https://www.jstor.org/stable/43582472>
- 41- Vojodi Mehrbani, L., Valizadeh Kamran, R., Khurizadeh, S., & Seiiid Nezami, S. (2018). Response of coriander to salinity stress. *Journal of Plant Physiology and Breeding*, 8(2), 89–98. <https://doi.org/10.22034/JPPB.2018.9804>

- 42- Wang, F., Zeng, B., Sun, Z., & Zhu, C. (2009). Relationship between proline and Hg^{2+} - induced oxidative stress in a tolerant rice mutant. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 56, 723-731. <https://doi.org/10.1007/s00244-008-9226-2>
- 43- Zhang, H.Z. (2014). Melatonin promotes seed germination under high salinity by regulating antioxidant systems, ABA and GA4 interaction in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Journal of Pineal Research*, 57, 269-279. <https://doi.org/10.1111/jpi.12167>

Investigating the Effect of Different Concentrations of Murashige and Skoog (MS) Medium and Sucrose on the Production of Potato (*Solanum tuberosum* L.) Microtubers *in vitro*

F. Yarmohammadi¹, A. Motallebi-Azar², S. Kazemiani³, M. Amani^{4*}

1- M.Sc. Graduate, Bastam Agricultural Jihad Center, Semnan Province, Shahrood, Iran

2, 3 and 4- Associate Professor, M.Sc. Graduate and Ph.D. Student, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran, respectively

(*- Corresponding author's Email: Mina76amani@yahoo.com)

Received: 06-03-2024
Revised: 08-07-2024
Accepted: 18-07-2024
Available Online: 18-07-2024

How to cite this article:

Yarmohammadi, F., Motallebi-Azar, A., Kazemiani, S., & Amani M. (2024). Investigating the effect of different concentrations of Murashige and Skoog (MS) medium and sucrose on the production of potato (*Solanum tuberosum* L.) microtubers *in vitro*. *Journal of Horticultural Science*, 38(4), 745-762. (In Persian with English abstract).
<https://doi.org/10.22067/jhs.2024.87157.1330>

Introduction

Considering the sensitivity of potatoes (*Solanum tuberosum* L.) to viruses, the production of virus-free plants through *in vitro* cultivation and their propagation leads to a reduction in costs and an increase in yield. One of the effective methods of reducing plant diseases and producing disease-free microtubers is the use of *in-vitro* production methods. Considering the role and importance of macro elements and micro elements in the growth of microtubers, it is possible to change the composition of MS culture medium by changing the concentration of salts of macro elements and micro elements without disturbing the balance of elements. This experiment aims to investigate the effect of different concentrations of macro elements (2 Mac, Mac, ½ Mac) and micro elements (2 Mic, Mic, ½ Mic) of MS culture medium in combination with two concentrations of sucrose (80 and 160 g.l⁻¹) was performed on *in vitro* micronodulation of Agria potato.

Materials and Methods

This experiment aimed to investigate the effects of different concentrations of macroelements (2 Mac, Mac, ½ Mac) and microelements (2 Mic, Mic, ½ Mic) in the MS culture medium, combined with two sucrose concentrations (80 and 160 g.l⁻¹), on *in vitro* microtuberization of Agria potato. The study was conducted as a factorial experiment in a completely randomized design with three replications in the plant tissue culture laboratory of the Department of Horticultural Sciences at the Faculty of Agriculture, University of Tabriz. Lateral buds obtained from *in-vitro* shoots were used as explants and were cultured under sterile conditions on different culture mediums for the purpose of microtuberation, and the cultures were kept in continuous darkness and at a temperature of 18±2°C were kept in the growth room. During one month, Microtuber initiation rate and after two months, microtuber formation characteristics were measured.

Results and Discussion

The results of the analysis of variance showed that the effect of the concentration of micro elements and the interaction effects of micro elements with different concentrations of sucrose and macro elements were significant only in the case of two traits, the percentage and the speed of microtuber initiation, while all microtuber traits productivity was significantly affected by the interaction of micro elements and macro elements. In all culture mediums with 8% sucrose, the initiation percentage of microtubers was 100% and the initiation rate was also maximum. However, the highest percentage of microtuber formation, weight, length, diameter and number of buds on microtuber was obtained in 2Mac culture medium with 16% sucrose. The results showed that the microtuber that



©2024 The author(s). This is an open access article distributed under [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

<https://doi.org/10.22067/jhs.2024.87157.1330>

had more weight and size had a higher percentage of dormancy and the buds on the microtuber were not able to germinate and produce microtuber during the stages of microtuber formation.

Conclusions

For all traits related to microtubers, except for the percentage and speed of microtuber initiation, the effects of microelements, macroelements, and sucrose were not significant. This indicates that the three factors investigated do not independently enhance microtuber formation in the Agria variety. Regarding micronodulation traits, the interaction effect of low-consumption elements with the other two factors was also not significant, suggesting that the concentration of low-consumption elements is not critical for micronodulation in the Agria variety. In all culture media with 8% sucrose, the initiation percentage of microtubers reached 100%, and the initiation speed was at its maximum. However, when the concentration of macroelements was doubled and 16% sucrose was used, both the initiation percentage and speed of microgland formation in the Agria variety showed a significant decrease. The percentage of microtuber formation, weight, length, diameter and number of buds on the microtuber in Agria cultivar were significantly affected by the mutual effect of the concentration of macro elements and sucrose, and the 2 Mac culture medium has 16% sucrose in the first priority and the ½ culture medium Mac with 8 % sucrose in the second priority was better than the other treatments in terms of the investigated traits. In this research, it was found that the produced microglands with greater weight and size had a higher percentage of dormancy and during the stages of microglandogenesis, the buds on the microtubers were not able to germinate and produce microtubers.

Keywords: Agria variety, Macro elements, Micro elements, Microtuber formation, Tissue culture

مقاله پژوهشی

جلد ۳۸، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۳، ص. ۷۴۵-۷۶۲

بررسی اثر غلظت‌های مختلف محیط کشت موراشیک و اسکوگ (MS) و ساکارز در تولید ریزغده سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum* L.) در شرایط درون شیشه‌ای

فهیمه یارمحمدی^۱  - علیرضا مطلبی‌آذر^۲  - سمانه کاظمیانی^۳  - مینا امانی^۴ 

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۲/۱۶

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۴/۲۸

چکیده

هدف از این پژوهش، بررسی افزایش سرعت ریزغده‌زایی و بهبود صفات ریزغده‌زایی، تعیین بهترین غلظت ساکارز (۸۰ و ۱۶۰ گرم در لیتر)، نمک‌های عناصر پرمصرف (2 Mac, Mac, ½ Mac) و کم‌مصرف (2Mic, Mic, ½ Mic) و غلظت‌های مختلف محیط کشت MS برای بهبود سرعت و کمیت ریزغده‌زایی در سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum* L.) رقم آگریا اجرا شد. از جوانه‌های جانبی حاصل از شاخساره‌های درون شیشه‌ای به‌عنوان ریزنمونه استفاده شد و تحت شرایط استریل روی محیط‌های کشت مختلف به‌منظور ریزغده‌زایی کشت شدند و کشت‌ها در تاریکی مداوم و دمای ۱۸±۲ درجه سانتی‌گراد در اتاق رشد نگهداری شدند. در طی یک ماه سرعت آغازش ریزغده و پس از گذشت دو ماه صفات ریزغده‌زایی اندازه‌گیری شد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر غلظت عناصر کم‌مصرف و اثرات متقابل عناصر کم‌مصرف با غلظت‌های مختلف ساکارز و عناصر پرمصرف فقط در مورد دو صفت درصد و سرعت آغازش ریزغده معنی‌دار بوده، درحالی‌که تمامی صفات ریزغده‌زایی از اثر متقابل عناصر کم‌مصرف × پرمصرف به‌طور معنی‌داری متأثر شدند. در تمامی محیط‌های کشت دارای ۸۰ گرم در لیتر ساکارز، درصد آغازش ریزغده‌ها ۱۰۰ درصد و سرعت آغازش نیز حداکثر بود. بالاین‌حال، بالاترین درصد تشکیل ریزغده، وزن، طول، قطر و تعداد جوانه روی ریزغده، در محیط کشت 2Mac دارای ۱۶۰ گرم در لیتر ساکارز به‌دست آمد. نتایج نشان داد که ریزغده‌هایی که وزن و اندازه بیشتری داشتند، از درصد رکود بیشتری برخوردار بودند و جوانه‌های روی ریزغده‌ها طی مراحل ریزغده‌زایی، قادر به جوانه‌زنی و تولید ریزغده نبودند. در همه محیط‌های کشت استفاده شده همراه با ۸۰ گرم در لیتر ساکارز، درصد آغازش ریزغده‌ها ۱۰۰ درصد و سرعت آغازش غده بیشتر بود، ولی زمانی‌که از دوبرابر غلظت عناصر پرمصرف و ۱۶۰ گرم در لیتر ساکارز استفاده شد، درصد آغازش و سرعت آغازش ریزغده کاهش یافت. در این تحقیق مشخص شد که ریزغده‌های تولیدی با وزن و اندازه بیشتر، از درصد رکود بیشتری برخوردار بودند و طی مراحل ریزغده‌زایی، جوانه‌های روی ریزغده‌ها قادر به جوانه‌زنی و تولید ریزغده نبودند.

واژه‌های کلیدی: رقم آگریا، ریزغده‌زایی، عناصر پرمصرف، عناصر کم‌مصرف، کشت‌بافت

مقدمه

می‌شود (Abelenda et al., 2019). میزان استفاده از سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum* L.) به‌عنوان غذا در جهان ۳۰ الی ۷۲ درصد می‌باشد (Shahriyar et al., 2015)، اولاً به‌عنوان یک منبع کربوهیدرات و ثانیاً به‌عنوان سبزی استفاده می‌شود، بنابراین سیب‌زمینی از مهم‌ترین سبزیجات در جهان به‌شمار می‌آید. از آنجاکه ازدیاد سیب‌زمینی توسط اندام‌های غیرجنسی (غده‌ها) صورت می‌گیرد، دسترسی به گیاهان و غده‌های سالم و مناسب حائز اهمیت است

با توجه به افزایش روزافزون جمعیت جهان در سال‌های اخیر، نیاز به مواد غذایی اهمیت زیادی پیدا کرده است. یکی از راه‌های افزایش مواد غذایی، افزایش تولیدات کشاورزی است. سیب‌زمینی با نام علمی (*Solanum tuberosum* L.) یکی از گیاهان تیره Solanaceae به‌دلیل کشت‌وکار آسان به‌عنوان اولین سبزی رایج در جهان کشت

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، مرکز جهاد کشاورزی بسطام، استان سمنان، شاهرود، ایران

۲، ۳ و ۴- به‌ترتیب دانشیار، دانش آموخته کارشناسی ارشد و دانشجوی دکتری، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

* - نویسنده مسئول: (Email: Mina76amani@yahoo.com)

(Salem & Hassanein, 2017). باتوجه به حساسیت سیبزمینی به ویروس‌ها، تولید گیاهان عاری از ویروس از طریق کشت درون شیشه‌ای و تکثیر آن‌ها، به کاهش هزینه‌ها و افزایش عملکرد منجر می‌شود (Hannapel, 2007; Igbal et al., 2016). تولید ریزغده در شرایط درون شیشه‌ای اولین بار توسط کشت گره‌های منفرد با جوانه‌های جانبی برای تولید غده بذری عاری از ویروس در سیبزمینی صورت گرفت (Haque et al., 2009). این ریزغده‌های عاری از بیماری را می‌توان در تمام طول سال و در هر حجمی تولید کرد (Hannapel, 2007).

عامل‌های مؤثر بر ریزغده‌زایی در شرایط درون شیشه‌ای شامل ژنوتیپ (Ahloowalia, 1999)، نوع ریزنمونه (Khuri & Moorby, 1996)، فتوپریود (Hussey & Stacey, 1984)، دما (Akita & Takayama, 1994)، نوع منبع کربن (Garner & Blake, 1989)، تنظیم‌کننده‌های رشد (Ortiz-Montiel & Lozoya-Saldafia, 1987) و ترکیبات محیط کشت است. غده سیبزمینی از نظر گیاهشناسی، ساقه تغییر شکل یافته است. جوانه‌های جانبی در شرایط درون شیشه‌ای به محرک‌های خارجی به‌منظور توسعه شاخساره یا ریزغده‌زایی پاسخ می‌دهند (Afrasiab & Iqbal, 2012). تأمین محیط کشت مناسب برای ادامه رشد ریزغده‌ها ضروری است و به‌نظر می‌رسد که مؤثرترین راه برای رسیدن به ریزغده‌های بزرگ‌تر باشد (Khalafalla et al., 2010). امروزه در دنیا و در کشور ایران، تحقیقات زیادی در ارتباط با ریزازدیادی گیاهانی با ارزش اقتصادی صورت گرفته است (Joshi & Mature, 2015) که در این میان، پژوهش‌هایی نیز بر روند ریزغده‌زایی سیبزمینی جهت بهبود کیفیت آن صورت گرفته است (Motallebi-Azar et al., 2011; 2013; Khalil et al., 2017; Ashrafzadeh & Leung, 2015; Ebadi & Iranbakhsh, 2011; Snnowald & Snnowald, 2015). تمامی مطالعات، از محیط کشت پایه MS استفاده شده است و تغییری در ترکیبات اصلی این محیط کشت (عناصر پرمصرف و کم‌مصرف) انجام نشده است و با توجه به نقش و اهمیت عناصر پرمصرف و کم‌مصرف در رشد ریزغده‌ها، می‌توان با تغییر غلظت نمک‌های عناصر پرمصرف و کم‌مصرف، بدون برهم‌زدن تعادل عناصر، در ترکیب محیط کشت MS تغییراتی را ایجاد نمود و اثر آن‌ها را روی ریزغده‌زایی بررسی کرد (Yu et al., 2000). در شرایط درون شیشه‌ای، اضافه کردن ساکارز در سطوح بالا به محیط کشت الزامی است تا ریزغده‌زایی صورت بگیرد (Simko, 1994). یو و همکاران (Yu et al., 2000) ساکارز را به‌عنوان منبع کربنی معرفی کردند که برای رشد ریزغده‌ها تقدم بیشتری نسبت به فراورده‌های حاصل از هیدرولیز آن دارد و مقدار ساکارز در دسترس را از عوامل اصلی در تولید ریزغده‌ها دانستند (George, 1993; Karhu, 1997). ساکارز دارای دو نوع نقش در توسعه ریزغده‌ها می‌باشد. نقش اول آن به‌عنوان منبع

کربن است که به‌آسانی توسط گیاهچه‌های درون شیشه‌ای جذب و به نشاسته تبدیل می‌شود. نقش دوم آن در رشدونمو ریزغده است (Yu et al., 2000). هیدرولیز ساکارز منجر به تولید مقادیر برابر گلوکز و فروکتوز می‌شود. در محیط کشت، غلظت گلوکز همیشه کمتر از غلظت فروکتوز است، زیرا سلول‌های سیبزمینی تمایل بیشتری برای جذب گلوکز از فروکتوز دارند (Yu et al., 2000). برای رسیدن به اندازه معمول ریزغده، نگهداری غلظت ساکارز در سطح مناسب در طول رشدونمو ریزغده ضروری است (Yu et al., 2000).

برای انجام یک آزمایش موفق و یا تولید و تکثیر گیاه از طریق کشت بافت و ایجاد اندام‌های هوایی نابجا در ریزنمونه‌های کشت شده، ترکیبات محیط کشت نقش اساسی و سرنوشت‌ساز دارد. محیط کشت غذایی، عامل مهم در کشت بافت و سلول به‌شمار می‌رود، آنچه که طراحی محیط کشت را به‌طور خاصی مشکل می‌کند، اثرات متقابل بسیار پیچیده مواد شیمیایی مختلف در یک محیط کشت غذایی مشخص می‌باشد. به‌عنوان مثال، کاربرد بعضی از قندها در محیط کشت سبب کمبود بر می‌شود (George, 1993; Karhu, 1997). همچنین محیط‌های کشت از نظر پتانسیل اسمزی متفاوت می‌باشند. پتانسیل اسمزی محیط‌های کشت مختلف به‌وسیله مواد قابل حل اندازه‌گیری می‌شود که ساکارز و عناصر پرمصرف، بیشترین تأثیر را در پتانسیل اسمزی محیط کشت دارند (George, 1993). این تحقیق به‌منظور افزایش سرعت ریزغده‌زایی و بهبود صفات ریزغده‌زایی، تعیین بهترین غلظت ساکارز، نمک‌های عناصر پرمصرف و کم‌مصرف و غلظت‌های مختلف محیط کشت MS برای بهبود سرعت و کمیت ریزغده‌زایی در رقم آگریا اجرا شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش، در آزمایشگاه کشت بافت گیاهی گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز انجام شده است. در این بررسی از گیاهچه‌های درون شیشه‌ای عاری از ویروس سیبزمینی رقم آگریا موجود در آزمایشگاه کشت بافت گیاهی گروه علوم باغبانی دانشگاه تبریز استفاده شد. برای تهیه محیط کشت، اقدام به تهیه محلول‌های پایه از نمک‌های معدنی و ویتامین‌ها گردید. مواد لازم و مقادیر آن‌ها برای تهیه یک لیتر از محیط کشت MS 1/2 و MS 2MS در جدول ۱ آورده شده است. برای تهیه محیط کشت، مواد لازم به‌صورت هفت محلول ذخیره (استوک) شامل نمک‌های عناصر پرمصرف، نمک‌های عناصر کم‌مصرف، KI و CaCl₂، نمک آهن، نمک مس و مولیبدن و ویتامین‌ها تهیه و در یخچال نگهداری گردید. برای تهیه محیط کشت، مقدار لازم از محلول‌های ذخیره برداشته و همراه با ترکیب عناصر پرمصرف و کم‌مصرف موردنیاز (که به‌صورت ذخیره تهیه شده بود)، به محیط کشت اضافه شد. حجم محلول به ۱۰۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد و

اتسمفر به مدت ۲۰ دقیقه شدند. پس از ضدعفونی، محیط‌های کشت تا زمان کشت در شرایط تاریکی نگهداری شدند.

محیط کشت ریزغده‌زایی

برای بررسی ریزغده‌زایی از محیط‌های کشت Mac ۱/۲، Mac ۲، ۱/۲ Mic، ۲ Mic همراه با دو غلظت ۸۰ و ۱۶۰ گرم ساکارز در لیتر، جمعاً ۱۸ ترکیب استفاده شد (جدول ۲).

بسته به نوع تیمار ساکارز محیط‌کشت، ۸۰ یا ۱۶۰ گرم در لیتر ساکارز به محیط‌کشت اضافه شد. بعد از افزودن مقدار ۰/۱ گرم بر لیتر میواینوزیتول، pH محلول با استفاده از NaOH یا HCl یک نرمال روی ۵/۸ تنظیم گردید. برای جلوگیری از تغییر در pH محیط‌کشت در مدت زمان رشد ریزنمونه‌ها، از ¹MES به مقدار ۰/۵ میلی گرم در لیتر استفاده شد. برای تهیه محیط جامد، هشت گرم آگار به محیط اضافه شد. پس از حل شدن کامل آگار، در داخل هر ظرف شیشه‌ای، ۳۰ میلی لیتر محیط کشت با استفاده از استوانه مدرج ریخته شد و محیط‌های کشت اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار یک

جدول ۱- مواد و مقادیر آن‌ها برای تهیه یک لیتر محیط‌کشت

Table 1- Materials and their amounts for preparing one liter of medium

محل ذخیره (استوک) Stock solution	مواد Material	مقادیر اصلی برای تهیه محیط‌کشت 2MS The main values for the preparation of 2MS culture medium (g.l ⁻¹)	مقادیر اصلی برای تهیه محیط‌کشت MS Main values for preparation of MS culture medium (g.l ⁻¹)	مقادیر اصلی برای تهیه محیط‌کشت ۱/۲ MS The main values for the preparation of culture medium ۱/۲ MS (g.l ⁻¹)
نمک‌های عناصر ماکرو Macro elements	NH ₄ NO ₃	3.3	1.65	0.825
	KNO ₃	3.8	1.9	0.95
	MgSO ₄ .7H ₂ O	0.74	0.37	0.185
	KH ₂ PO ₄	0.34	0.17	0.085
نمک‌های عناصر میکرو Micro elements	MnSO ₄ .4H ₂ O	0.046	0.023	0.0115
	ZnSO ₄ .7H ₂ O	0.0172	0.0086	0.0043
	H ₃ BO ₃	0.0124	0.0062	0.0031
	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.0005	0.00025	0.000125
	CuSO ₄ .5H ₂ O	0.00005	0.000025	0.0000125
	CoCl ₂ .6H ₂ O	0.00005	0.000025	0.0000125
کلسیم Calcium	CaCl ₂ .2H ₂ O	0.88	0.44	0.22
ید Iodine	KI	0.00166	0.00083	0.000415
ویتامین Vitamin	Nicotinic acid	0.0005	0.0005	0.0005
	Thiamin.HCl	0.0005	0.0005	0.0005
	Pyridoxine.HCl	0.0001	0.0001	0.0001
	Glycine	0.002	0.002	0.002
آهن Iron	FeSO ₄ . 7H ₂ O	0.0556	0.0278	0.0139
	Na ₂ EDTA.2H ₂ O	0.0672	0.0336	0.0168

جدول ۲- غلظت‌های مختلف عناصر پرمصرف و کم‌مصرف در تیمارهای مورد بررسی

Table 2- Different concentrations of Macro and Micro elements in the investigated treatments

تیمار Treatment	یک دوم میکرو ۱/۲ Mic	یک برابر میکرو Mic	دو برابر میکرو 2 Mic
نصف ماکرو ۱/۲ Mac	۱/۲ Mac × ۱/۲ Mac	۱/۲ Mac × Mic	۱/۲ Mac × 2 Mic
یک برابر ماکرو Mac	Mac × ۱/۲ Mic	Mac × Mic (control)	Mac × 2 Mic
دو برابر ماکرو 2 Mac	2 Mac × ۱/۲ Mic	2 Mac × Mic	2 Mac × 2 Mic

کشت ریزنمونه‌ها

برای کشت ابتدا گیاهچه‌ها از داخل شیشه کشت در زیر هود لامینار خارج شده و سپس روی کاغذ صافی استریل شده قرار گرفتند. با استفاده از اسکالپل در زیر هود، قلمه‌های تک گره از وسط شاخساره به طول تقریبی یک سانتی‌متر تهیه شد. در مرحله بعد، ریزنمونه‌ها در محیط کشت، شامل غلظت‌های مختلف عناصر پرمصرف، کم‌مصرف و ساکارز به‌طور عمودی با رعایت قطبیت قرار داده و در شرایط تاریکی کامل با دمای 18 ± 2 درجه سانتی‌گراد به مدت دو ماه نگهداری شدند.

اندازه‌گیری صفات

زمان آغازش ریزغده (مشاهده تورم جوانه جانبی به اندازه دو میلی‌متر)، هر هفته به مدت یک ماه یادداشت‌برداری گردید. بعد از تشکیل ریزغده و رشد کافی، دو ماه بعد از کشت، اندازه‌گیری‌های درصد آغازش و تشکیل ریزغده، قطر، طول، وزن، تعداد جوانه رشدیافته روی ریزغده و رکود ریزغده‌ها (تعداد ریزغده دارای جوانه رشدیافته در هر واحد آزمایشی بر تعداد کل ریزغده)، به عنوان شاخصی از تولید ریزغده ثبت شد. درصد تشکیل ریزغده (قطر بیش از پنج میلی‌متر) با شمارش تعداد ریزنمونه‌هایی که ریزغده تولید کرده بودند، نسبت به تعداد کل ریزنمونه‌ها برآورد گردید. برای تعیین درصد آغازش ریزغده با قطر حدود دو میلی‌متر نیز به همین ترتیب عمل شد. قطر و طول ریزغده‌ها به وسیله خط کش و وزن ریزغده با ترازوی حساس (0.001 گرم) اندازه‌گیری شد.

سرعت آغازش ریزغده

$$\text{سرعت آغازش} = \frac{(n_1 \times t_1) + \dots + (n_n \times t_n)}{t_n} \quad (1)$$

که در آن، n : تعداد ریزغده آغازش شده و t : روز می‌باشد. برای اندازه‌گیری سرعت آغازش ریزغده هر شش روز یک‌بار تعداد ریزغده آغازش شده شمارش شد.

استفاده از ریزغده به عنوان واحد تکثیر

گلدان‌های دارای پیت، ورمی‌کولایت و پرلایت به نسبت ۱:۱:۱ در دمای 121 درجه سانتی‌گراد و فشار یک اتمسفر به مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو شدند. سپس سیستم میست در اتاق کشت راه‌اندازی شد. ریزغده‌ها از محل میان گره در زیر هود لامینار بریده شده و به گلدان‌ها انتقال داده شدند و سپس آبیاری و به زیر سیستم میست با دمای 25 ± 2 درجه سانتی‌گراد در شرایط ۱۶ ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی منتقل گردیدند و به مدت یک ماه در این شرایط نگهداری شدند. پس از چهار الی شش روز، گیاهچه‌ها سبز شدند. در طول نگهداری در شرایط آزمایشگاه، هفته‌ای دو مرتبه محلول غذایی ۱۰ برابر رقیق شده MS به‌منظور رشد بهتر گیاهچه‌ها، به گیاهان داده شد.

علاوه بر این، جهت تهیه مجدد ریزنمونه جهت کشت (در صورت نیاز)، ریزغده‌ها پس از برداشت، به محیط کشت MS فاقد تنظیم‌کننده‌های رشد منتقل شده و در اتاق رشد در دمای 25 ± 2 درجه سانتی‌گراد (فوتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی) قرار گرفتند. پس از شش الی هفت روز، ریزغده‌ها جوانه زده و برای تهیه گیاهچه‌های درون شیشه‌ای قابل استفاده بودند.

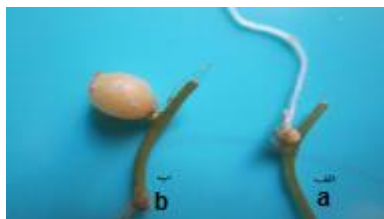
تجزیه و تحلیل داده‌ها

این تحقیق به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و در هر تکرار چهار نمونه اجرا شد. بررسی فرضیات تجزیه واریانس برای تمامی صفات مورد اندازه‌گیری نشان داد که فرضیات تجزیه واریانس (به خصوص همگنی واریانس و عدم ارتباط بین واریانس و میانگین) برای تمامی صفات برقرار بوده و نیازی به تبدیل داده و یا هر روش دیگری که باعث برقراری فرضیات تجزیه واریانس شود نبوده و بنابراین، تجزیه واریانس داده‌ها و همبستگی خطی بین صفات با استفاده از نرم‌افزار SPSS ver.21 انجام شد. مقایسات میانگین تیمارها با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام و نمودارها با نرم‌افزار Excel ترسیم شد. در این نمودارها، مقدار عددی بار روی هر ستون نشان‌دهنده انحراف استاندارد میانگین تیمار موردنظر می‌باشد.

نتایج و بحث

فرآیند آغازش و ریزغده‌زایی

نخستین آغازش ریزغده، چهار روز پس از کشت جوانه جانبی، در محیط کشت MS با نصف عناصر پرمصرف دارای ۸۰ گرم در لیتر ساکارز مشاهده شد (داده‌ها نشان داده نشده است). البته در برخی از ریزنمونه‌ها، ریزغده‌های آغازش‌یافته، رشد نکرده (اندازه کمتر از دو میلی‌متر) و بنابراین، جوانه‌های جانبی شروع به رشد کرده (شکل ۱-الف) و در چنین نمونه‌هایی، ریزغده‌ای تشکیل نشد. بعد از دو ماه، طول شاخه‌های رشدیافته از محل گره بین یک الی ۲۵ سانتی‌متر بود (شکل ۲) که در برخی ریزنمونه‌ها، شاخه‌های رشدیافته، تولید شاخه جانبی کردند (شکل ۳). در اکثر تیمارها، ریزغده‌های آغازش شده، رشد کرده و طی دو ماه، اندازه آن‌ها از دو الی نه میلی‌متر متغیر بود (شکل ۱-ب). کشت تعدادی از ریزغده‌های تولیدی روی محیط کشت MS بدون هورمون نشان داد که جوانه‌های موجود روی ریزغده‌ها پس از پنج الی هفت روز شروع به رشد کرده و پس از یک ماه گیاهان درون شیشه‌ای مطلوب را تولید کردند (شکل ۴). برخی از ریزنمونه‌ها هیچ ریشه‌ای تولید نکردند، ولی اکثر ریزنمونه‌ها دارای یک الی ۱۶ عدد ریشه بودند که طول آن‌ها بین ۰/۵ الی ۲۰ سانتی‌متر متغیر بود (شکل ۵).



شکل ۱- پاسخ جوانه جانبی به تیمارهای ریزغده‌زایی در سیب‌زمینی رقم آگریا (الف) عدم رشد ریزغده آغازش‌یافته و (ب) ریزغده رشدیافته
Figure 1- Lateral bud response to micronodulation treatments for potato cv. Agria a) lack of microgland development and b) Microgland developed



شکل ۲- رشد شاخساره سیب‌زمینی رقم آگریا از محل گره به طول ۲۵ سانتی‌متر
Figure 2- 25 cm long shoot growth from the node location of potato cv. Agria



شکل ۳- رشد شاخساره‌های در سیب‌زمینی رقم آگریا از محل گره
Figure 3- The growth of potato cv. Agria shoots from the location of the node



شکل ۴- تولید گیاهچه‌های درون شیشه‌ای از ریزغده سیب‌زمینی رقم آگریا
Figure 4- Production of *in vitro* seedlings from microgland of potato cv. Agria



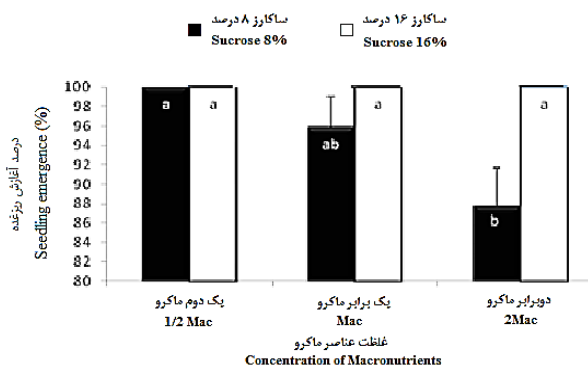
شکل ۵- ریشه‌های رشدیافته از ریزنمونه به طول یک الی ۲۰ سانتی‌متر در سیب‌زمینی رقم آگریا
Figure 5- The roots grown from the explant with a length of 1 to 20 cm in potato cv. Agria

درصد آغازش ریزغده

آغازش ریزغده در محیط کشت MS (تغییرنیافته) و در تغییر یافته‌های آن (هشت محیط کشت) مشاهده شد، اما زمان آغازش و درصد آغازش وابسته به نوع محیط کشت و غلظت ساکارز بود. نخستین آغازش ریزغده چهار الی پنج روز پس از کشت جوانه‌های جانبی در محیط کشت MS با نصف عناصر پرمصرف به همراه ۸۰ گرم در لیتر ساکارز مشاهده شد و به طور متوسط در سایر محیط‌های کشت ۱۴ الی ۱۶ روز پس از کشت، آغازش ریزغده شروع شد. غلظت‌های مختلف ساکارز و عناصر پرمصرف در سطح احتمال پنج درصد تأثیر معنی‌داری روی درصد آغازش ریزغده داشتند، اما اختلاف معنی‌داری بین غلظت‌های مختلف عناصر کم‌مصرف از نظر درصد آغازش ریزغده مشاهده شد. اثر متقابل $Mac \times Suc$ بر روی درصد آغازش ریزغده معنی‌دار بود، در حالی که سایر اثرات متقابل ($Mac \times Mic$) ($Suc, Mic \times Suc, Mac \times Mic$) بر درصد آغازش ریزغده تأثیر معنی‌داری نداشتند (جدول ۳). در این آزمایش در محیط‌های کشت دارای ۸۰ گرم در لیتر ساکارز و با افزایش غلظت عناصر پرمصرف، درصد آغازش ریزغده تغییر نکرد و آغازش ریزغده در این تیمارها، ۱۰۰ درصد بود، ولی هنگامی که از ۱۶۰ گرم در لیتر ساکارز استفاده گردید با افزایش غلظت عناصر پرمصرف، کاهش معنی‌داری در درصد آغازش ریزغده‌ها مشاهده شد. حداقل درصد آغازش ریزغده، در محیط کشت 2Mac دارای ۱۶۰ گرم در لیتر ساکارز مشاهده گردید. فشار اسمزی در غلظت ۱۶۰ گرم در لیتر ساکارز برای ریزغده‌زایی مناسب بوده و امکان جذب مواد غذایی توسط سلول‌های گیاهی و آغازش ریزغده وجود دارد. احتمالاً افزایش غلظت عناصر پرمصرف و ساکارز، فشار اسمزی را بالاتر از حد بهینه برده و این امر نتیجه معکوس در پی داشته است. همچنین ممکن است کاهش غلظت عناصر، باعث رقیق شدن محیط کشت و جذب راحت‌تر آب و مواد غذایی توسط گیاه گردد. به نظر می‌رسد که افزایش فشار اسمزی در حد بهینه، سبب تحریک و افزایش رشدونمو شده و پس از رسیدن به

یک حد بهینه رشد و شکل‌گیری اندام، بر اثر توقف جذب آب متوقف می‌شود. از طرف دیگر، با کاهش غلظت عناصر پرمصرف به $1/2 Mac$ در هر دو غلظت ساکارز، آغازش ریزغده‌ها ۱۰۰ درصد بود، بنابراین می‌توان گفت که غلظت ۸۰ گرم در لیتر ساکارز و $1/2 Mac$ از نظر درصد آغازش ریزغده و جنبه اقتصادی مناسب‌تر از سایر تیمارها می‌باشد. در محیط کشت $1/2 Mac$ ، آغازش غده در *Gloriosa rothschildiana* بالاتر از محیط کشت Mac بود (Kozak, 2003). گزارشات قبلی نیز بر این امر تأکید دارد که برای ریزغده‌زایی باید غلظت‌های ساکارز را مورد بررسی قرار داد (Seabrook et al., 2004; Hussain et al., 2006). کارلسون و همکاران (Carlson et al., 2004) گزارش کردند که بهترین محیط کشت برای القاء ریزغده، محیط کشت MS همراه با ۸۰ گرم در لیتر ساکارز می‌باشد. غلظت ۸۰ گرم در لیتر ساکارز در مقایسه با غلظت ۴ و ۱۲ گرم در لیتر ساکارز سبب افزایش در آغازش ریزغده‌ها گردید (Garner & Blake, 1989).

آغازش ریزغده در غلظت‌های مختلف عناصر کم‌مصرف از ۹۵/۰۸ تا ۹۸/۱۱ درصد متغیر بود و از نظر آماری تفاوتی بین غلظت‌های مختلف عناصر کم‌مصرف وجود نداشت (شکل ۶). بنابراین، برای آغازش ریزغده از جوانه جانبی، نیاز به مقادیر کمتر عناصر کم‌مصرف ($1/2 Mac$) می‌باشد. این امر نشان داد که برای آغازش ریزغده‌ها، مقدار عناصر کم‌مصرف بحرانی نبوده و آغازش ریزغده وابسته به عناصر کم‌مصرف نمی‌باشد. احتمال می‌رود که حتی در مقادیر پایین‌تر عناصر کم‌مصرف نیز آغازش ریزغده مشاهده شود. همچنین مقادیر عناصر کم‌مصرف روی فشار اسمزی محلول بی‌تأثیر بوده و چون آغازش ریزغده عمدتاً وابسته به فشار اسمزی است، بنابراین با دو برابر کردن مقادیر عناصر Mic ، فشار اسمزی در حد ناچیز افزایش پیدا کرده که همراه با تأمین بهتر مواد غذایی لازم برای سلول‌های تحریک شده، باعث مقداری افزایش در درصد آغازش ریزغده شده است. قندها و عناصر پرمصرف، بیشترین تأثیر را در پتانسیل اسمزی کل محیط کشت دارند (George, 1993).



شکل ۶- درصد آغازش ریزغده سیب‌زمینی رقم آگریا در غلظت‌های مختلف ساکارز و عناصر پرمصرف

Figure 6- The microtuber initiation of potato cv. Agriain different concentrations of sucrose and macro elements (DMRT, $p \leq 0.05$)

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر عوامل مورد بررسی بر صفات مورد مطالعه سیب‌زمینی رقم آگریا
Table 3- ANOVA for the effect of the studied factors on the studied traits of potato cv. Agria

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean square								تعداد شاخه Number of shoot	رکود Dormancy
		آغازش ریزغده Microtuber initiation	تشکیل ریزغده Microtuber formation	سرعت آغازش ریزغده Microtuber initiation rate	طول ریزغده Microtuber length	قطر ریزغده Microtuber diameter	وزن ریزغده Microtuber weight	تعداد جوانه روی ریزغده Number of buds per microtuber			
عناصر پرمصرف Mac	2	158.14*	517.32 ^{ns}	1.47 ^{ns}	1.36 ^{ns}	1.32 ^{ns}	0.05 ^{ns}	1.47 ^{ns}	0.08 ^{ns}	818.36 ^{ns}	
عناصر کم‌مصرف Mic	2	58.75 ^{ns}	669.84 ^{ns}	0.80 ^{ns}	0.57 ^{ns}	1.70 ^{ns}	94.72 ^{ns}	2.95 ^{ns}	0.06 ^{ns}	228.89 ^{ns}	
ساکارز Suc	1	371.90*	9.84 ^{ns}	4.4*	6.40 ^{ns}	2.04 ^{ns}	65.06 ^{ns}	5.33 ^{ns}	0.32 ^{ns}	1143.95 ^{ns}	
عناصر پرمصرف × عناصر کم‌مصرف	4	19.39 ^{ns}	325.83 ^{ns}	0.38 ^{ns}	1.88 ^{ns}	0.67 ^{ns}	156.62 ^{ns}	0.95 ^{ns}	0.04 ^{ns}	510.42 ^{ns}	
Mac × Mic											
عناصر پرمصرف × ساکارز Mac × Suc	2	158.14*	3581.99*	0.04*	9*	13.24*	1622.88 ^{ns}	15.83*	0.66*	606.97 ^{ns}	
عناصر کم‌مصرف × ساکارز Mic × Suc	2	58.75 ^{ns}	193.13 ^{ns}	0.54 ^{ns}	3.85 ^{ns}	1.63 ^{ns}	358.66 ^{ns}	0.60 ^{ns}	0.05 ^{ns}	95.07 ^{ns}	
عناصر پرمصرف × عناصر کم‌مصرف × ساکارز Mac × Mic × Suc	4	19.39 ^{ns}	402.41 ^{ns}	0.38 ^{ns}	1.47 ^{ns}	0.23 ^{ns}	209.2 ^{ns}	1.65 ^{ns}	0.02 ^{ns}	1209.61 ^{ns}	
خطا Error	33	62.96	1217.50	0.71	2.55	1.94	353.26	2.32	0.14	1002.21	

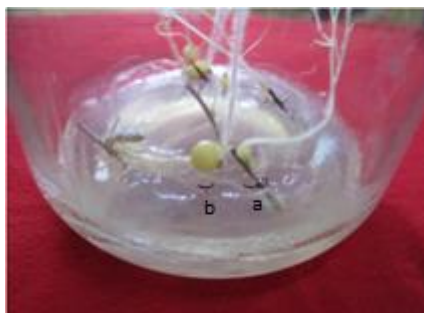
^{ns}, **, and *: بن‌ترتیب عدم معنی‌داری، معنی‌داری در سطح احتمال یک و پنج درصد
^{ns}, **, and *: non-significant, and significant at $p \leq 0.01$ and $p \leq 0.05$, respectively

درصد تشکیل ریزغده

در اکثر تیمارها و ریزنمونه‌ها، پس از آغازش ریزغده‌ها در محل گره، ریزغده‌ها در طی دو ماه تشکیل شدند (شکل ۷-ب). باین‌حال، در تیمارهایی که به دلیل شرایط نامناسب، ریزغده‌های آغازش یافته رشد نکرده بودند، جوانه‌های جانبی شروع به رشد کرده و ریزغده‌ای در محل گره تولید نشد (شکل ۷-الف). در محیط کشت MS (شاهد)، میانگین تشکیل ریزغده برابر ۲۳/۳۵ درصد و در محیط‌های کشت MS تغییر یافته ۲۷/۲۳ درصد بود (شکل ۸). اختلاف معنی‌داری بین غلظت‌های مختلف عناصر پرمصرف، عناصر کم‌مصرف و ساکارز از نظر درصد تشکیل ریزغده وجود نداشت. باین‌حال، درصد تشکیل ریزغده به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر اثر متقابل $Mac \times Suc$ قرار گرفت، درحالی‌که سایر اثرات متقابل دوگانه و سه‌گانه معنی‌دار نبودند (جدول ۳). حداقل درصد تشکیل ریزغده در غلظت ۱۶۰ گرم در لیتر ساکارز، در محیط کشت $Mac \frac{1}{2}$ حاصل شد و با افزایش غلظت عناصر پرمصرف، درصد تشکیل ریزغده نیز به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. به‌طوری‌که درصد تشکیل ریزغده در $Mac \frac{1}{2}$ ۳۶ درصد و در 2Mac، ۷۱ درصد بود. بنابراین، در محیط کشت حاوی ۱۶۰ گرم در لیتر ساکارز، اضافه کردن عناصر پرمصرف باعث افزایش معنی‌داری در تشکیل ریزغده شد. حداقل درصد تشکیل ریزغده در محیط کشت MS (شاهد) دارای ۸۰ گرم در لیتر ساکارز نسبت به $Mac \frac{1}{2}$ از درصد تشکیل ریزغده کمتری برخوردار بود؛ لذا می‌توان چنین نتیجه گرفت که در رقم آگریا محیط کشت MS تغییر یافته ($Mac \frac{1}{2}$) دارای ۸۰ گرم در لیتر ساکارز، باعث بهبود تشکیل ریزغده می‌شود. از طرف دیگر، محیط کشت 2 Mac دارای ۱۶۰ گرم در لیتر از درصد تشکیل ریزغده بالایی برخوردار بود. باین‌حال، برای کاهش هزینه‌ها، محیط کشت $Mac \frac{1}{2}$ دارای ۸۰ گرم در لیتر ساکارز نسبت به سایر تیمارها ترجیح داده می‌شود. به کار بردن غلظت شش الی ۱۰ گرم در لیتر ساکارز سبب تشکیل ریزغده گردید (Bhojwani & Razdan, 1996). آلتیندال و کارادوگان (Altindal & Karadogan, 2011) نشان دادند که نوع منبع کربن و غلظت به کار رفته برای هر رقم متفاوت می‌باشد، به‌طوری‌که محیط کشت پایه MS دارای شش گرم در لیتر ساکارز در رقم آگریا و چهار درصد مالتوز در رقم جاستین، بهترین محیط‌های کشت برای ریزغده‌زایی بودند. در غلظت‌های مختلف عناصر کم‌مصرف، درصد تشکیل ریزغده از ۴۹ تا ۶۰ درصد متغیر بود و از نظر آماری اختلاف معنی‌داری بین غلظت‌های مختلف عناصر کم‌مصرف مشاهده نشد. بنابراین، استفاده از غلظت‌های بالا یا پایین عناصر کم‌مصرف بر تشکیل بهینه ریزغده اثری نداشته و می‌توان از غلظت پایین عناصر کم‌مصرف استفاده نمود.

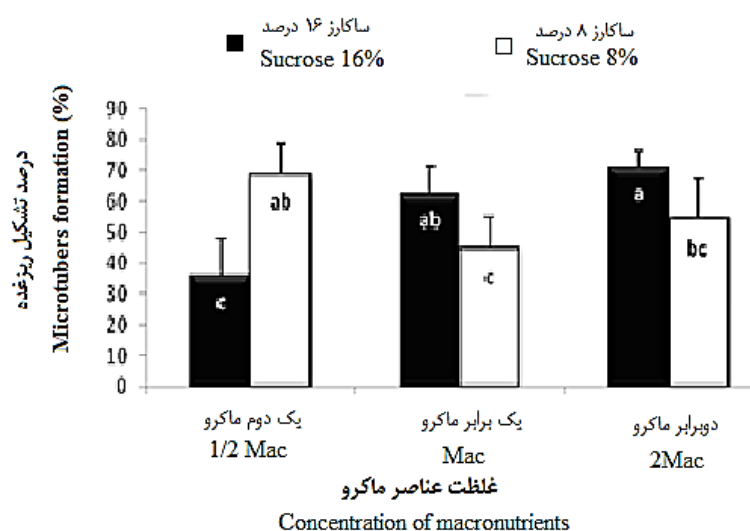
سرعت آغازش ریزغده

در هر محیط کشت، شروع ریزغده‌زایی از یک ریزنمونه به ریزنمونه دیگر متفاوت بود. همچنین اختلاف زمانی بین شروع ریزغده‌زایی در ریزنمونه‌های کشت شده در یک محیط کشت وجود داشت، به‌طوری‌که در برخی از ریزنمونه‌ها چهار الی پنج روز بعد از کشت، آغازش ریزغده مشاهده شد و در تعداد دیگری از ریزنمونه‌ها پس از ۱۴ الی ۱۶ روز آغازش ریزغده شروع شد. اختلاف معنی‌داری بین دو غلظت ساکارز از نظر سرعت آغازش ریزغده وجود داشت، درحالی‌که سرعت آغازش ریزغده تحت تأثیر غلظت‌های مختلف عناصر کم‌مصرف و پرمصرف قرار نگرفت. از بین اثرات متقابل، فقط اثر متقابل $Mac \times Suc$ تأثیر معنی‌داری روی سرعت آغازش ریزغده داشت. این نتایج نشان داد که غلظت‌های مختلف عناصر پرمصرف و کم‌مصرف نتوانست به‌طور معنی‌داری سرعت آغازش ریزغده‌ها را تغییر دهد. باین‌حال، زمانی که غلظت‌های مختلف عناصر پرمصرف را به همراه درصدهای مختلف ساکارز در نظر بگیریم، سرعت آغازش ریزغده‌ها از اثر توأم این دو فاکتور به‌طور معنی‌داری متأثر شدند. نتایج حاصل از مقایسه میانگین نشان داد که کمترین سرعت آغازش ریزغده مربوط به محیط کشت 2Mac دارای ۱۶۰ گرم در لیتر ساکارز بود. سایر تیمارها از سرعت آغازش ریزغده مناسب و حداکثری برخوردار بودند. این امر احتمالاً به این خاطر می‌باشد که در محیط کشت 2 Mac دارای ۱۶۰ گرم در لیتر ساکارز، فشار اسمزی بالا، باعث تأخیر در آغازش ریزغده‌ها شده که نهایتاً پس از یک ماه، درصد آغازش ریزغده در این تیمار نسبت به سایر تیمارها کمتر بود. این درحالی است که فشار اسمزی بالا در بهبود تشکیل ریزغده‌ها مؤثر می‌باشد (شکل ۹). لذا محیط کشت 2 Mac دارای ۱۶۰ گرم در لیتر ساکارز برای تشکیل ریزغده تیمار مناسبی است، هرچند که از سرعت آغازش پایین‌تری برخوردار باشد. ساکارز یکی از محرک‌های بحرانی برای تشکیل ریزغده است و به‌عنوان یک منبع رطوبت بذر و منبع انرژی و نیز در غلظت‌های بالاتر به‌عنوان سیگنالی برای تشکیل ریزغده ضروری است (Hussain et al., 2006). یو و همکاران (Yu et al., 2000) گزارش کردند که سرعت رشد ریزغده‌ها در غلظت ۸۰ گرم در لیتر ساکارز خیلی بالاتر از زمانی بود که از چهار گرم در لیتر ساکارز در محیط کشت استفاده شد. سرعت آغازش ریزغده در غلظت‌های مختلف عناصر کم‌مصرف از ۲/۸۷۷ تا ۳/۲۹۵ متغیر بود. باین‌حال، از نظر آماری تفاوتی بین غلظت‌های مختلف عناصر کم‌مصرف وجود نداشت. به دلیل اینکه سرعت آغازش ریزغده عمدتاً وابسته به فشار اسمزی است و عناصر کم‌مصرف نقش بارزی در فشار اسمزی ندارند، بنابراین با دو برابر کردن مقادیر Mic، مواد غذایی بیشتری تأمین خواهد شد و باعث مقداری افزایش در سرعت آغازش ریزغده شده است.



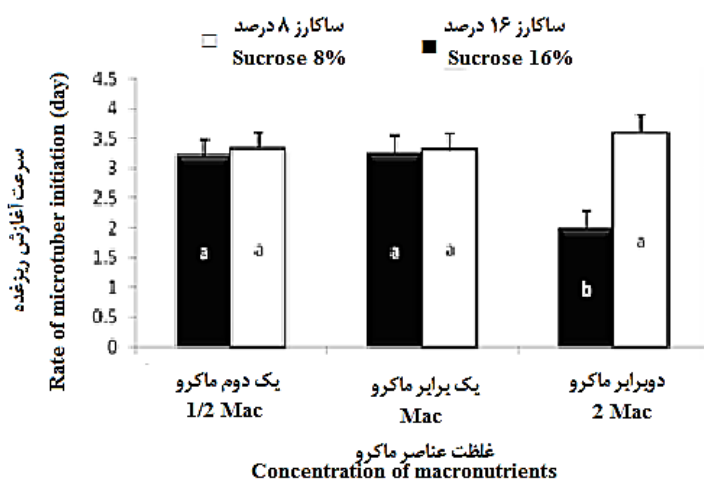
شکل ۷- فرآیند ریزغده‌زایی سیب‌زمینی رقم آگریا پس از دو ماه: الف- عدم رشد ریزغده آغازش یافته و تبدیل شدن به شاخه ب- ریزغده رشد یافته

Figure 7- The process of microtuber formation of potato cv. Agria after two months: A- The lack of developed microtuber and B- Developed microtuber



شکل ۸- درصد تشکیل ریزغده سیب‌زمینی رقم آگریا در غلظت‌های مختلف ساکارز و عناصر پرمصرف

Figure 8- The percentage of microtuber formation of potato cv. Agria in different concentrations of sucrose and macro elements (DMRT, $p \leq 0.05$)



شکل ۹- سرعت آغازش ریزغده سیب‌زمینی رقم آگریا در غلظت‌های مختلف ساکارز و عناصر پرمصرف

Figure 9- The microtuber initiation rate per day of potato cv. Agria in different concentrations of sucrose and macro elements (DMRT, $p \leq 0.05$)

طول ریزغده

در تیمارهای مورد بررسی، طول ریزغده از دو الی نه میلی متر متغیر بود (شکل ۱۰). طول ریزغده تحت تأثیر غلظت‌های مختلف عناصر پرمصرف، عناصر کم‌مصرف و ساکارز قرار نگرفت. به غیر از اثر متقابل $\text{Mac} \times \text{Suc}$ ، سایر اثرات متقابل روی طول ریزغده تأثیر معنی داری نداشتند. طولی ترین ریزغده با میانگین $4/2$ میلی متر در محیط کشت 2Mac دارای 160 گرم در لیتر ساکارز مشاهده شد، ولی اختلاف معنی داری با محیط کشت تغییر نیافته Mac تکمیل شده با 160 گرم در لیتر ساکارز نداشت، تغییر غلظت عناصر پرمصرف به $1/2$ Mac، سبب کاهش طول ریزغده (به کمترین مقدار، $2/1$ میلی متر)، در بین تیمارهای به کار رفته شد. در غلظت 80 گرم در لیتر ساکارز، طول ریزغده با کاهش غلظت عناصر پرمصرف، از 2 Mac به Mac ثابت مانده و سپس در $1/2$ Mac افزایش نشان داد، ولی این افزایش معنی دار نبود (شکل ۱۱). با توجه به نقش عناصر پرمصرف می توان چنین استنباط کرد که یونی مانند یون کلسیم که در محیط کشت به صورت نمک کلرید کلسیم وجود دارد، علاوه بر نقش‌های متعددی مانند حضور در ساختمان و پروتئین‌های غشاء سلولی و تیغه میانی دیواره سلولی و ساخت سلولز، فعال کننده تعدادی از آنزیم‌های مسئول تقسیم سلولی و طولی شدن سلول می باشد (Shacklock et al., 1992; Jones, 1998; Mengel & Kirby, 1987). نیتروژن نیز برای ساختن اسید آمینه تربیتوفان (ماده اولیه برای ساخت اکسین) لازم می باشد (George, 1993)، با کاهش غلظت این عناصر در محیط کشت، سنتز اکسین که یکی از وظایف آن طولی شدن و توسعه سلولی است، کاهش می یابد. در نتیجه، رشد سلول ها با کاهش غلظت عناصر پرمصرف کاهش می یابد و سبب کاهش طول ریزغده می شود و با توجه به اینکه ریزغده یک اندام ذخیره ای برای نشاسته می باشد، به مقادیر ساکارز بالاتری نیاز دارد، بنابراین با افزایش غلظت ساکارز می توان انتظار داشت که ریزغده های بزرگتری تولید شود. طول ریزغده در غلظت های مختلف عناصر کم مصرف از $1/7$ تا $2/3$ میلی متر متغیر بود. با این حال، از نظر آماری اختلاف معنی داری بین غلظت های مختلف عناصر کم مصرف مشاهده نشد و می توان چنین استنباط کرد که طول ریزغده مستقل از اثرات عناصر کم مصرف بوده و وابستگی زیادی به غلظت های ساکارز و عناصر پرمصرف دارد. در کل، در صورت بهینه بودن سایر عوامل مؤثر در ریزغده زایی، غلظت های بالای ساکارز می تواند در تولید و رشد ریزغده های بزرگتر مفید باشد (Yu et al., 2000; Shibli et al., 2001).

قطر ریزغده

قطر ریزغده تحت تأثیر فاکتورهای مورد مطالعه قرار نگرفت، ولی اثر متقابل دوگانه $\text{Mac} \times \text{Suc}$ تأثیر معنی داری روی قطر ریزغده

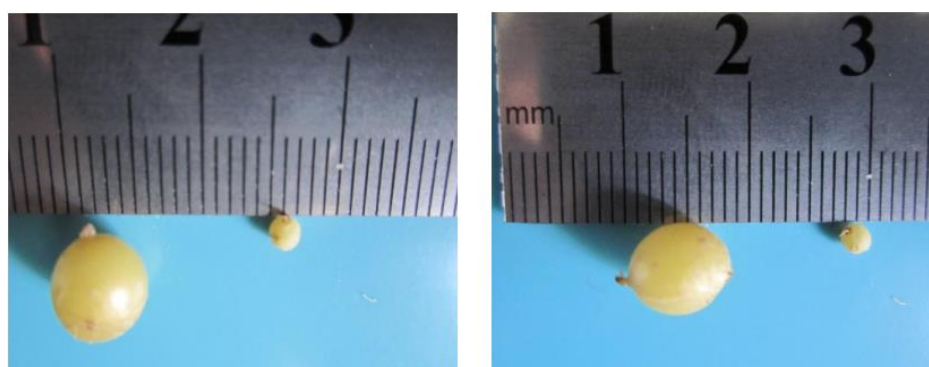
داشت. قطر ریزغده از $1/7$ الی چهار میلی متر متغیر می باشد و این امر نشان داد که در محیط های کشت مورد استفاده، قطر ریزغده مناسبی به دست آمده است. با این حال، قطورترین ریزغده ها در محیط کشت 2 Mac که با 160 گرم در لیتر ساکارز تکمیل شده بود، به دست آمد. این در حالی است که قطر ریزغده ها در محیط کشت MS (شاهد) در هر دو غلظت ساکارز و نیز در محیط کشت $1/2$ Mac تکمیل شده با 80 گرم در لیتر ساکارز بیشتر بود. در دو محیط کشت (محیط کشت 2Mac همراه با 80 گرم در لیتر ساکارز و نیز محیط کشت $1/2$ Mac به همراه 160 گرم در لیتر ساکارز)، قطر ریزغده ها کم تر بود (شکل ۱۲). ریزغده ها یک منبع با ارزش برای نگهداری ژرم پلاسما سیب زمینی می باشند. در تحقیقی که روی شش ژنوتیپ مختلف سیب زمینی انجام گردید، مشخص شد که فقط ریزغده های با قطر بیش از پنج میلی متر توانستند بعد از سه سال انبارداری، بقاء خود را حفظ نمایند. از طرفی دیگر، روند تولید ریزغده وابسته به غلظت ساکارز بود، به طوری که در محیط های کشت دارای 160 گرم در لیتر ساکارز با افزایش غلظت عناصر پرمصرف، افزایش در قطر ریزغده ها مشاهده شده و برعکس زمانی که محیط کشت دارای 80 گرم در لیتر ساکارز بود، کاهش در غلظت عناصر پرمصرف باعث افزایش قطر ریزغده ها گردید. قطر ریزغده ها در غلظت های مختلف عناصر کم مصرف از $2/47$ تا $3/11$ میلی متر متغیر بود و با کاهش غلظت عناصر کم مصرف، افزایش ناچیزی در قطر ریزغده ها مشاهده شد، ولی اختلاف معنی داری بین $1/2$ Mic، Mic و 2Mic وجود نداشت و می توان از غلظت پایین عناصر کم مصرف استفاده نمود. در میان سه غلظت مختلف ساکارز (صفر، شش و هشت گرم در لیتر) بزرگترین ریزغده تولیدی ($4/3$ میلی متر) در محیط کشت شش گرم در لیتر ساکارز همراه با 12 گرم در لیتر BAP مشاهده گردید (Imani et al., 2010).

تعداد جوانه روی ریزغده

سیب زمینی از جمله محصولات می باشد که توسط اندام رویشی تکثیر می گردد و با توجه به اینکه ریزغده یک اندام برای تکثیر می باشد، با افزایش تعداد جوانه روی ریزغده، محصول بیشتری تولید خواهد شد. با اعمال تیمارهای مختلف، تعداد جوانه روی ریزغده ها بین یک الی نه جوانه متغیر بود. تعداد جوانه روی ریزغده، از غلظت های مختلف عناصر کم مصرف، پرمصرف و ساکارز متأثر نگردید. از طرف دیگر، تعداد جوانه تحت تأثیر اثر متقابل $\text{Mac} \times \text{Suc}$ قرار گرفت و سایر اثرات متقابل بر تعداد جوانه معنی دار نبودند. تعداد جوانه روی ریزغده به غلظت های عناصر پرمصرف و ساکارز وابسته بود، به طوری که بالاترین تعداد جوانه ($4/231$) روی هر ریزغده زمانی به دست آمد که ریزغده ها در محیط کشت 2Mac دارای 160 گرم در لیتر ساکارز قرار گرفتند، در صورتی که در محیط کشت 2Mac دارای

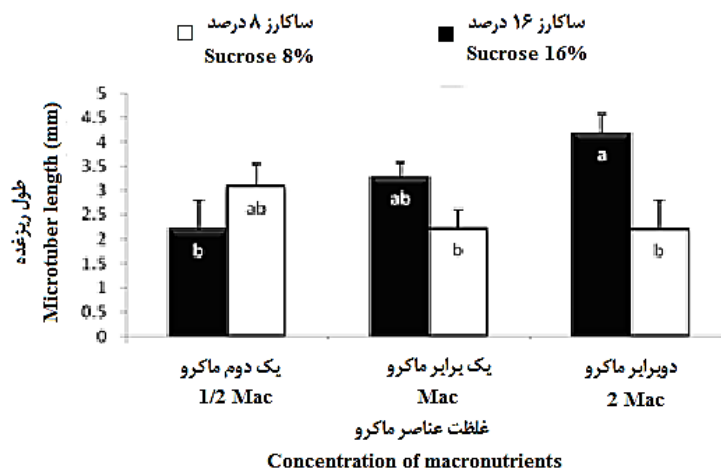
بیشتر از دو عدد نبودند. از آنجایی که افزایش تعداد جوانه روی ریزغده، منجر به افزایش عملکرد ریزغده در محصول می‌شود، بنابراین استفاده از تیمارهایی با غلظت بالاتر ساکارز و عناصر پرمصرف مناسب‌تر می‌باشد. در غلظت‌های مختلف عناصر کم‌مصرف، تعداد جوانه روی ریزغده از $\frac{2}{4}$ تا $\frac{3}{2}$ عدد متغیر بود، ولی از نظر آماری تفاوتی بین غلظت‌های مختلف عناصر کم‌مصرف مشاهده نگردید. بنابراین، استفاده از غلظت‌های بالا یا پایین عناصر کم‌مصرف بر تشکیل تعداد جوانه اثری نداشته و می‌توان از غلظت پایین عناصر کم‌مصرف استفاده نمود.

۸۰ گرم در لیتر ساکارز، کمترین تعداد جوانه ($\frac{1}{509}$) مشاهده گردید. در محیط کشت Mac متوسط، تعداد ریزغده در ۱۱۶۰ گرم در لیتر ساکارز بیشتر از ۸۰ گرم در لیتر ساکارز بود، ولی اختلاف معنی‌داری بین دو غلظت ۸۰ و ۱۶۰ گرم در لیتر ساکارز مشاهده نگردید (شکل ۱۳). در محیط کشت Mac $\frac{1}{2}$ ، متوسط تعداد جوانه روی ریزغده در ۸۰ گرم در لیتر ساکارز بالاتر از ۱۶۰ گرم در لیتر بود، ولی اختلاف معنی‌داری را نشان نداد. این نتایج نشان داد که محیط کشت تغییر یافته 2Mac دارای ۸۰ گرم در لیتر ساکارز و Mac $\frac{1}{2}$ دارای ۱۶۰ گرم در لیتر ساکارز، تحت این شرایط قادر به تولید ریزغده‌هایی با تعداد جوانه



شکل ۱۰- طول ریزغده (راست) و قطر ریزغده (چپ) در سیب‌زمینی رقم آگریا

Figure 10- Microtuber length (right) and the microtuber diameter of (left) of potato cv. Agria



شکل ۱۱- طول ریزغده سیب‌زمینی رقم آگریا در غلظت‌های مختلف ساکارز و عناصر پرمصرف

Figure 11- The microtuber length of potato cv. Agria in different concentrations of sucrose and macro elements (DMRT, $p \leq 0.05$)

خواب، عامل محدودکننده در استفاده از ریزغده‌ها به‌عنوان بذر گواهی شده می‌باشد که برای کوتاه کردن کارهای کشت بافت، عدم وجود رکود مفید است (Leclerc & Donnelly, 1995). عوامل متعددی از قبیل ژنوتیپ، اندازه ریزغده، مدت زمان قرار گرفتن ریزغده‌ها در محیط کشت، تنظیم‌کننده‌های رشد، بلوغ جوانه و سطح داخلی ABA

رکود

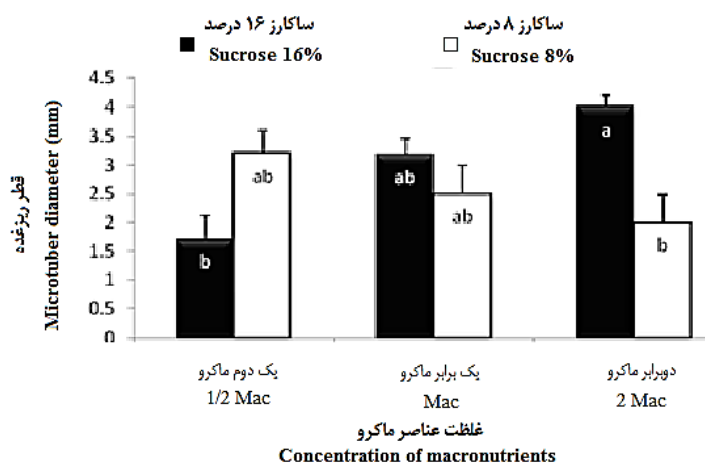
در تعدادی از ریزغده‌های تولیدی در محیط‌های کشت مورد بررسی، جوانه‌های موجود روی ریزغده، شروع به رشد کردند و این امر نشان داد که این ریزغده‌ها فاقد رکود بودند. رشد جوانه به‌دلیل نداشتن دوره خواب در ریزغده‌های تولیدی اتفاق می‌افتاد. عدم وجود دوره

2Mac دارای ۱۶۰ گرم در لیتر ساکارز به دست آمد و با توجه به اینکه در این محیط کشت، میزان غده تشکیل شده حداکثر بوده، طبیعی است که تعداد شاخه حداقل باشد (شکل ۱۴). گزارش‌ها نشان داد که سطوح کم ساکارز (سه گرم در لیتر) در محیط کشت ریزغده‌زایی، شاخساره‌های طبیعی را تولید می‌کنند و هیچ ریزغده‌ای تشکیل نشد. بنابراین، سطوح کم ساکارز مسئول رشد رویشی شاخساره در سیب‌زمینی هستند (Hussain *et al.*, 2006; Khuri & Moorby, 1995). پژوهش‌های فوجینو و همکاران (Fujino *et al.*, 1995) نشان داد که افزایش ساکارز از سه به هشت گرم در لیتر، سبب توقف تولید شدن شاخه‌ها و متورم شدن ناحیه زیر هر یک از شاخه‌ها می‌شود. تتسومورا و همکاران (Tetsumura *et al.*, 2008) گزارش کردند که کاهش در غلظت محیط کشت MS سبب افزایش تشکیل ریشه و شاخه در *Vaccinium corymbosum* گردید.

بر خواب ریزغده‌ها اثر می‌گذارند (Hemberg, 1985). تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به درصد رکود ریزغده‌ها نشان داد که اثرات ساده و متقابل فاکتورهای مورد مطالعه روی درصد رکود ریزغده‌ها معنی‌دار نبودند، لذا غلظت‌های مختلف عناصر پرمصرف، عناصر کم‌مصرف و ساکارز، رکود یکسانی را ایجاد کردند و به‌طور متوسط ۷۳/۶۵ درصد ریزغده‌ها، دارای رکود بودند.

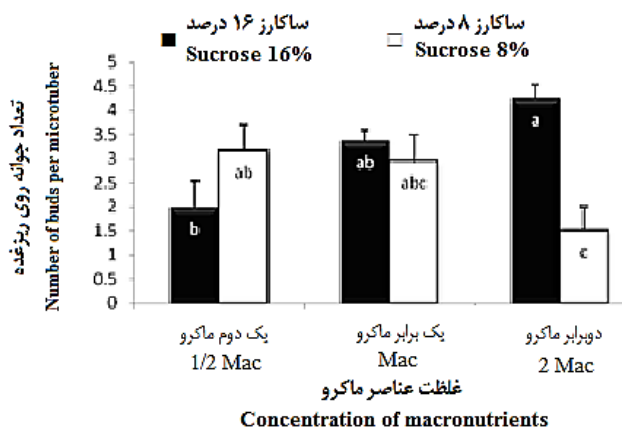
تعداد شاخه رشدیافته از محل گره

شاخساره‌های رشدیافته، دارای طولی بین یک الی ۲۵ سانتی‌متر بودند که گاهی روی شاخساره اصلی، شاخساره‌های جانبی نیز تشکیل شد. تعداد شاخه رشدیافته از محل گره تحت تأثیر اثر متقابل ساکارز و عناصر پرمصرف قرار گرفت. کمترین تعداد شاخساره در محیط کشت



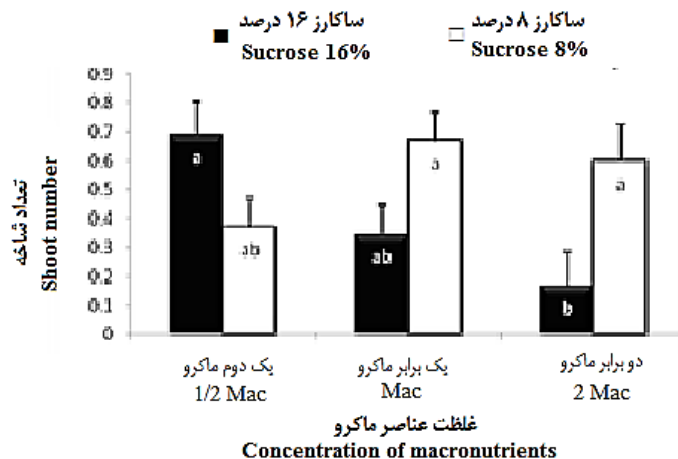
شکل ۱۲- قطر ریزغده سیب‌زمینی رقم آگریا در غلظت‌های مختلف ساکارز و عناصر پرمصرف

Figure 12- The microtuber diameter of potato cv. Agria in different concentrations of sucrose and macro elements (DMRT, $p \leq 0.05$)



شکل ۱۳- تعداد جوانه سیب‌زمینی رقم آگریا روی هر ریزغده در غلظت‌های مختلف ساکارز و عناصر پرمصرف

Figure 13- The number of buds on per microtuber of potato cv. Agria in different concentrations of sucrose and macro elements (DMRT, $p \leq 0.05$)



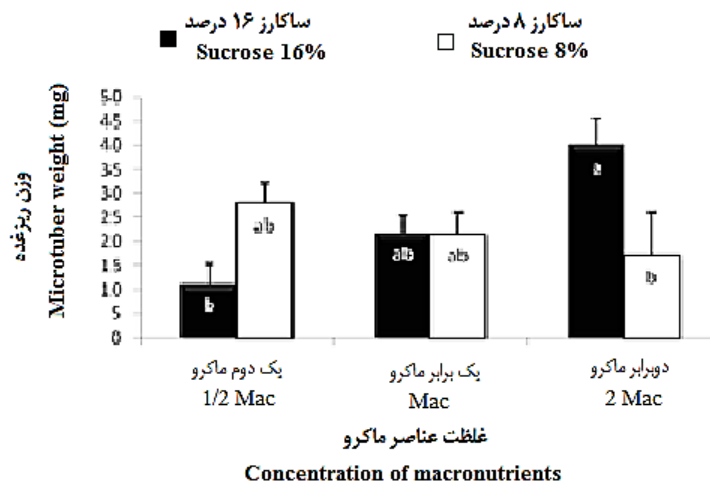
شکل ۱۴- تعداد شاخه سیب‌زمینی رقم آگریا در غلظت‌های مختلف ساکارز و عناصر پرمصرف

Figure 14- The shoot number of potato cv. Agria in different concentrations of sucrose and macro elements (DMRT, $p \leq 0.05$)

می‌باشد. اثر غلظت محیط کشت پایه روی جنین‌زایی سوماتیکی در مارچوبه بررسی شد و نتایج نشان داد که غلظت‌های محیط کشت پایه، روی رشد شاخساره‌ها تأثیر معنی‌داری داشت، علاوه‌براین، وزن تر شاخساره‌ها در تیمار 2MS دوبرابر MS بود (Mamiya & Sakamoto, 1999). بررسی روند تغییرات وزن ریزغده‌ها نشان داد که وزن ریزغده‌ها در محیط‌های کشت دارای ۱۶۰ گرم در لیتر ساکارز با افزایش غلظت عناصر پرمصرف افزایش نشان داد. این درحالی است که در محیط‌های کشت دارای ۸۰ گرم در لیتر ساکارز، کاهش معنی‌داری در وزن ریزغده‌ها با افزایش غلظت عناصر پرمصرف مشاهده شد. به عبارت دیگر، زمانی که غلظت عناصر پرمصرف افزایش می‌یابد، برای به‌دست آوردن ریزغده‌های با وزن بالا، بایستی غلظت ساکارز افزایش یابد تا علاوه‌بر تأمین مواد معدنی، انرژی لازم برای تجمع مواد نشاسته‌ای در ریزغده‌ها نیز فراهم شود. علت پایین بودن وزن ریزغده‌ها در ۸۰ گرم در لیتر ساکارز یا در غلظت‌های پایین‌تر از ۸۰ گرم در لیتر، می‌تواند به این دلیل باشد که در محیط کشت، ساکارز به‌راحتی به گلوکز و فروکتوز تجزیه شده و طی ۳۰ روز پس از کشت، قسمت اعظمی از ساکارز جذب و مورد استفاده قرار می‌گیرد. لذا برای مرحله رشد و بزرگ شدن ریزغده‌ها، منبع کربن ناچیزی باقی خواهد ماند، ولی با افزایش غلظت ساکارز، می‌توان انتظار داشت که منبع کربن کافی برای بزرگ شدن ریزغده وجود داشته باشد. وزن ریزغده از ۲۰/۵ میلی‌گرم تا ۲۴/۷۲ میلی‌گرم در غلظت‌های مختلف عناصر کم‌مصرف، متغیر بود، ولی از نظر آماری اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید، به‌طوری که در رابطه با عناصر کم‌مصرف، اختلاف معنی‌داری بین محیط کشت MS و تغییر یافته‌ها وجود نداشته و به‌نظر می‌رسد که غلظت ۱/۲ Mic می‌تواند نیازهای رشد سلول‌های ریزغده را فراهم سازد، پس می‌توان از محیط کشت MS یا تغییر یافته آن استفاده نمود، ولی با توجه به هزینه‌ها، محیط کشت دارای ۱/۲ Mic توصیه می‌شود.

وزن ریزغده‌ها

وزن ریزغده‌ها، به‌عنوان یک عامل اصلی در تولید غده محسوب می‌شود، به‌طوری که ریزغده‌هایی با وزن کم، گیاهچه‌هایی با تعداد غده کمی تولید خواهند کرد (Donnelly et al., 2003). بنابراین، بهینه‌سازی شرایط تولید ریزغده می‌تواند بر عملکرد مزرعه‌ای سیب‌زمینی تأثیرگذار باشد (Dwiati & Anggorowati, 2011). در این آزمایش، وزن ریزغده‌ها بین هفت تا ۱۰۳ میلی‌گرم متغیر بود که نشان‌دهنده بالا بودن وزن ریزغده‌های تولیدی از وزن تعریفی برای ریزغده‌ها می‌باشد. تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که غلظت‌های مختلف عناصر کم‌مصرف، پرمصرف و ساکارز تأثیر معنی‌داری بر وزن ریزغده نداشتند. این امر نشان می‌دهد که وزن ریزغده‌ها از اثرات انفرادی فاکتورهای مورد مطالعه متأثر نشد. با این حال، اثر متقابل $Mac \times Suc$ روی وزن ریزغده معنی‌دار بود، این درحالی است که سایر اثرات متقابل دوگانه و سه‌گانه بر وزن ریزغده معنی‌دار نبودند. وزن ریزغده در محیط کشت 2Mac دارای ۱۶۰ گرم در لیتر ساکارز، تقریباً دو برابر محیط کشت MS (شاهد) دارای ۸۰ یا ۱۶۰ گرم در لیتر ساکارز بود که این امر نشان‌دهنده بهبود عوامل تغذیه‌ای با دو برابر کردن غلظت عناصر پرمصرف می‌باشد. از طرف دیگر، با کاهش غلظت عناصر پرمصرف نسبت به محیط کشت MS (شاهد)، کاهش در وزن ریزغده‌ها در محیط کشت دارای ۱۶۰ گرم در لیتر ساکارز مشاهده گردید که نشان‌دهنده برهم‌خوردن تعادل بین مواد معدنی و غلظت منبع کربن می‌باشد (شکل ۱۵). برهم‌خوردن تعادل مواد معدنی و منبع کربن در تیمار دیگری نیز مشاهده گردید. به‌طوری که در محیط کشت تغییر یافته 2Mac، دارای ۱۶۰ گرم در لیتر ساکارز، وزن ریزغده دو برابر محیط کشت 2Mac، دارای ۸۰ گرم در لیتر ساکارز بود. بنابراین، غلظت‌های بالای ساکارز در ریزغده‌زایی و افزایش وزن ریزغده‌ها مؤثر



شکل ۱۵- وزن ریزغده سیب زمینی رقم آگریا در غلظت‌های مختلف ساکارز و عناصر پرمصرف

Figure 15- The weight of the potato cv. Agria microtuber in different concentrations of sucrose and macro elements (DMRT, $p \leq 0.05$)

لازم است که بالا بودن این صفات مدنظر باشد (داده‌ها نشان داده نشده است).

نتیجه‌گیری

در این مطالعه، محیط کشت 2Mac دارای ۱۶۰ گرم در لیتر ساکارز در اولویت اول و محیط کشت 1/2 Mac دارای ۸۰ گرم در لیتر ساکارز در اولویت دوم به علت تولید ریزغده‌های با وزن بالا و تعداد بیشتر جوله روی ریزغده به عنوان تیمار برتر پیشنهاد می‌شود. ریزغده‌های تولیدی با وزن و اندازه بیشتر، از درصد رکود بیشتری برخوردار بودند و طی مراحل ریزغده‌زایی، جوله‌های روی ریزغده‌ها قادر به جوله‌زنی و تولید ریزغده نبودند. همچنین با توجه به تأثیر مواد آلی بر فرآیندهای ریخت‌زایی، پیشنهاد می‌شود که اثر نوع و غلظت ویتامین‌ها، اسیدهای آمینه و افزودنی‌های آلی روی فرآیند ریزغده‌زایی بررسی شود.

ضریب همبستگی بین وزن ریزغده با صفات مورد اندازه‌گیری نشان داد که وزن ریزغده با تعداد شاخساره‌های تولیدی از جوانه جانبی رابطه منفی و معنی‌داری داشت. به عبارت دیگر، در محیط‌های کشتی که جوانه جانبی قادر به رشد و تولید شاخساره‌های جدید نبود، وزن ریزغده‌ها بالاتر بود. این امر نشان می‌دهد که هر ترکیب از عناصر پرمصرف و کم‌مصرف و نیز غلظت ساکارز و یا هر عامل دیگری که بتواند از رشد طولی شاخساره تولیدی از جوانه جانبی جلوگیری کند، می‌تواند باعث تشکیل ریزغده و در نهایت، منجر به تولید ریزغده‌های با وزن بالا گردد. از طرف دیگر، همبستگی مثبت و معنی‌داری بین وزن ریزغده با طول، قطر، درصد تشکیل ریزغده و تعداد جوانه روی ریزغده وجود داشته و در ریزغده‌ها و محیط‌های کشتی که طول، قطر و وزن ریزغده‌ها و تعداد جوانه روی ریزغده‌ها بالا بود، ریزغده‌های با وزن بالا تولید شد. این امر نشان می‌دهد که عوامل مشترکی روی این صفات تأثیرگذار می‌باشند. لذا در انتخاب محیط کشت مناسب،

References

- 1- Abelenda, J.A., Bergonzi, S., Oortwijn, M., Sonnewald, S., Du, M., Visser, R.G., & Bachem, C.W. (2019). Source-sink regulation is mediated by interaction of an FT homolog with a SWEET protein in potato. *Current Biology*, 29, 1178-1186. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2019.02.018>
- 2- Afrasiab, H., & Iqbal, J. (2012). Biochemical and molecular characterization of somaclonal variants and induced mutants of potato. *Pakistan Journal of Botany*, 44, 1503-1508.
- 3- Ahloowalia, B.S. (1999). Minutubers for seed potato production. *Farm and Food*, 4, 4-6.
- 4- Akita, M., & Takayama, S. (1994). Induction and development of potato tubers in a jar fermentor. *Plant Cell Tissue Organ Culture*, 36, 177-182. <https://doi.org/10.1007/BF00037717>
- 5- Altindal, D., & Karadogan. (2011). The effect of carbon sources on *in vitro* microtubertization of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Turkish Journal of Field Crops*, 15, 7-11.
- 6- Ashrafzadeh, S., & Leung, D.W.M. (2015). Microtuber formation in potato callus. *ScienceAsia*, 41, 1-4.
- 7- Bhojwani, S.S., & Razdan, M.K. (1996). Plant tissue culture: theory and practice, a revise edition Elsevier, 501 p.
- 8- Carlson, C., Groza, H.I., & Jiang, J. (2004). Induction of *in vitro* minimum potato plant growth and microtubertization. *American Journal of Potato Research*, 81, 50-58.

- 9- Donnelly, D.J., Coleman, W.K., & Coleman, S.E. (2003). Potato microtuber production and performance: A review. *American Journal of Potato Research*, 80, 103-115. <https://doi.org/10.1007/BF02870209>
- 10- Dwiati, M., & Anggorowati, S. (2011). Induction of *in vitro* culture of potato microtuber by using alar and dark photoperiod application. *Agrivita, Journal of Agricultural Science*, 33, 47-52. <https://doi.org/10.17503/agrivita.v33i1.38>
- 11- Ebadi, M., & Iranbakhsh, A. (2011). The induction and growth of potato (*Solanum tuberosum* L.) microtubers (sante cultivar) in response to the different concentrations of 6-benzylaminopurine and sucrose. *African Journal of Biotechnology*, 10, 10626-10635. <https://doi.org/10.5897/AJB11.047>
- 12- Fujino, K., Koda, Y., & Kikuta, Y. (1995). Reorientation of cortical microtubules in the sub-apical region during tuberization in single-node stem segments of potato in culture. *Plant and Cell Physiology*, 36, 891-895. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a078835>
- 13- Garner, N., & Blake, J. (1989). The induction and development of potato microtubers *in vitro* on media free of growth regulating substances. *Annals of Botany*, 63, 663-674. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a087795>
- 14- George, E.F. (1993). *Plant propagation by tissue culture. part1. The technology Exegetics England. Potato*. Ph.D. Thesis, Punjab Agricultural University Ludhiana India. http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4020-5005-3_8
- 15- Hannapel, D.J. (2007). *Signaling the Induction of Tuber Formation*. In: Vreugdenhil D (Ed.), *Potato Biology and Biotechnology*. Elsevier B.V, 242-243. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-044451018-1/50054-3>
- 16- Haque, A.V., Samad, M.A., & Shapla, T.L. (2009). *In vitro* callus initiation and regeneration of potato. *Bangladesh Journal of Agricultural Research*, 34, 449-456. <http://dx.doi.org/10.3329/bjar.v34i3.3971>
- 17- Hemberg, T. (1985). *Potato rest*. In: *Potato Physiology*. P.H. Li (Ed). Academic Press Inc, Orlando, Fla. U.S.A. 354-388.
- 18- Hussain, I., Chaudhry, Z., Muhammad, A., Asghar, R., Naqvi, S.M.S., & Rashid, H. (2006). Effect of chlorocholine chloride, sucrose and BAP on *in vitro* tuberization in potato (*Solanum tuberosum* L. cv. Cardinal). *Pakistan Journal of Botany*, 38, 275-282. <http://dx.doi.org/10.13140/RG.2.2.26159.89763>
- 19- Hussey, G., & Stacey, N.J. (1984). Factors affecting the formation of *in vitro* tubers of potato (*Solanum tuberosum* L.). *American Potato Journal*, 53, 565-578. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a086720>
- 20- Imani, A.A., Qhrmanzadeh, R., Azimi, J., & Janpoor, J. (2010). The effect of various of 6-benzylaminopurine (BAP) and sucrose on *in vitro* potato (*solanum tuberosum* L.) microtuber induction. *American-Eurasian Journal Agriculture and Environ. Science*, 8, 457-459.
- 21- Iqbal, A.A., Rizwan, A., Mukhtar, Z., Mansoor, S., Mehmood, Z., & Asad, S. (2016). Establishment of an efficient and reproducible regeneration system for potato cultivars grown in Pakistan. *Pakistan Journal of Botany*, 48, 285-290.
- 22- Jones, J.B. (1998). *Plant Nutrition Manual*. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA. p. 149.
- 23- Joshi, A., & Mature, N. (2015). Micropropagation and conservation of endanger medicinal plant – *Leptadenia rtilculata* (Retz.) wight and Arn. trough nodal explant. *International Journal of Current Advanced Research*, 4, 382-385.
- 24- Karhu, S.T. (1997). Sugar use in relation to shoot induction by sorbitol and cytokinin in apple. *Journal American Society Horticulture Science*, 122, 476–480. <https://doi.org/10.21273/JASHS.122.4.476>
- 25- Khalafalla, M.M., Abd Elaleem, K.G., Rasheid, S., & Modawi, R.S. (2010). Callus formation and organogenesis of potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivar almera. *Journal of Phytology*, 2, 40–46.
- 26- Khalil, M.M., Abd El Aal, A.M.H., & Samy, M.M. (2017). Studies on microtuberization of five potato genotypes. *Egyptian Journal of Horticulture*, 44, 91-97. <http://dx.doi.org/10.21608/ejoh.2017.1176.1011>
- 27- Khuri, S., & Moorby, J. (1995). Investigations into the role of sucrose in potato cv. Estima microtuber production *in vitro*. *Annal of Botany*, 75, 295-303. <https://doi.org/10.1006/anbo.1995.1024>
- 28- Kozak, D. (2003). Effect of medium components on *in vitro* tuberization of *Gloriosa rothschildiana* óbrien. *Acta Horticultur*, 624, 515-520. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2003.624.71>
- 29- Leclerc, Y., & Donnelly, D.J. (1995). Microtuber dormancy in three potato cultivars. *American Potato Jornal*, 2, 215-223. <http://dx.doi.org/10.1007/BF02855037>
- 30- Mamiya, K., & Sakamoto, Y. (1999). Effect of sugar concentration and strength of basal medium on conversion of somstic embryos in *Asparagus Officinalis* L. *Scientia Horticulture*, 84, 15-26. [http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4238\(99\)00098-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4238(99)00098-9)
- 31- Mengel, K., & Kirby, E.A. (1987). Principles of plant nutrition. International patash institute. *Worblafen Bern, Switzerland*, 7(12), 687-695. <http://dx.doi.org/10.1093/aob/mch063>
- 32- Motallebi-Azar, A., Kazemiani, S., & Yarmohamadi, F. (2013). Effect of sugar/osmotica levels on *in vitro* microtuberization of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Russian Agricultural Sciences*, 39, 112-116. <https://doi.org/10.3103/S1068367413020146>
- 33- Motallebi-Azar, A., Kazemiani, S., Kiumarsie, F., & Mohaddes, N. (2011). Shoot proliferation from node explants of potato (*Solanum tuberosum* cv. Agria). II. effect of different concentrations of NH₄NO₃, hydrolyzed casein and BAP. *Romanian Biotechnological Letters*, 16, 6181-6186.

- 34- Ortiz-Montiel, G., & Lozoya-Saldafia, H. (1987). Potato minitubers: Technology validation in Mexico. *American Potato*, 64, 535-544. <http://dx.doi.org/10.1007/BF02853752>
- 35- Salem, J., & Hassanein, A.M. (2017). In vitro propagation, microtuberization, and molecular characterization of three potato cultivars. *Biologia Plantarum*, 61, 427-437. <https://doi.org/10.1007/s10535-017-0715-x>
- 36- Seabrook, J.E.A., Douglass, L.K., & Arnold, D.A. (2004). Effect of leaves on microtubers produced from potato single-node cutting *in vitro*. *American Journal of Potato Research*, 81, 1-5. <https://doi.org/10.1007/BF02853830>
- 37- Shacklock, P.S., Read, N.D., & Trewavas, A.J. (1992). Cytosolic free calcium mediates redlight induced photomorphogenesis. *Nature*, 358, 753-755. <https://doi.org/10.1038/358753a0>
- 38- Shahriyar, S., Akram, S., Khan, K., Miya, F., & Sarkar, A.R. (2015). *In vitro* plant regeneration of potato (*Solanum tuberosum* L.) at the rate of different hormonal concentration. *Asian Journal of Medical and Biological Research*, 1, 297-303. <http://dx.doi.org/10.3329/ajmbr.v1i2.25625>
- 39- Shibli, R.A., Abu-Ein, A.M., & Ajlouni, M.M. (2001). *In vitro* and *in vivo* multiplication of virus free "Spunta" potato. *Pakistan Journal. Botanica*, 33, 35-41. <https://doi.org/10.22059/ijhs.2015.54133>
- 40- Simko, I. (1994). Sucrose application causes hormonal changes associated with potato tuber induction. *Journal Growth Regulator*, 13, 73-77. <https://doi.org/10.1007/s10725-004-5827-6>
- 41- Sonnewald, S., & Sonnewald, U. (2014). Regulation of potato tuber sprouting. *Planta*, 239, 27-38. <https://doi.org/10.1007/s00425-013-1968-z>
- 42- Tetsumura, T., Matsumoto, Y., & Sato, M. (2008). Evaluation of basal media for micropropagation of four highbush blueberry cultivars. *Science Horticulture*, 119, 72-84. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2008.06.028>
- 43- Yu, W.C., Joyce, P.J., Cameron, D.C., & McCown, B.H. (2000). Sucrose utilization during potato microtuber growth in bioreactors. *Plant Cell Reports*, 19, 407-413. <http://dx.doi.org/10.1007/s002990050748>

Research Article

Vol. 38, No. 4, Winter 2024, p. 763-775

Effect of Cytokine Treatment on Spring Scion Stimulation of Taracco Scion on Citromelo Rootstock

S.M. Gholami¹, M. Hadadinejad^{2*}, H. Moradi³, H. Sadeghi³

1, 2 and 3- M.Sc. Graduated, Assistant Professor and Associate Professor, Department of Horticulture, Faculty of Crop Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University (SANRU), Sari, Iran, respectively

(* - Corresponding Author Email: m.hadadinejad@sanru.ac.ir)

Received: 11-05-2024
Revised: 10-08-2024
Accepted: 13-08-2024
Available Online: 13-08-2024

How to cite this article:

Gholami, S.M., Hadadinejad, M., Moradi, H., & Sadeghi, H. (2024). Effect of cytokine treatment on spring scion stimulation of Taracco scion on Citromelo rootstock. *Journal of Horticultural Science*, 38(4), 763-775. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22067/jhs.2024.87914.1343>

Introduction

Bud dormancy is one of the important issues in planting and cultivation of fruit trees that needs to be addressed in many trees such as orange (*Citrus sinensis*). Bud dormancy involves cessation of horizontal and vertical growth, lack of budbreak, and reduction in plant activity during cold weather. One of the commercial orange cultivars is Tarocco blood orange which compared to older blood cultivars, is larger in size and with lower alternate bearing has higher marketability. The nursery trees of this cultivar are grafted on sour orange, citrange, and vigorous rootstock of citromelo (a hybrid between trifoliate orange and grapefruit) (Talon *et al.*, 2020). One of the major problems of nurserymen in spring grafting of Tarocco cultivar on vigorous citromelo rootstock is the failure of about 50 percent of buds to break compared to other cultivars on the same rootstock and other similar rootstocks. This unwanted dormancy leads to a one-year delay in the nursery tree production process and unnecessary occupation of nursery space. Given the commercial importance of blood orange and the adverse effects of bud dormancy on yield and fruit lifetime, solutions are used to control and overcome this problem. One of the effective solutions is the application of cytokinins which can stimulate the growth of graft buds (Yadav & Saini, 2018).

Materials and Methods

This research was conducted in a citrus nursery at the University of Agricultural Sciences and Natural Resources of Sari, in late May 2022. Citromelo seedlings were grown in 5.3 liter pots containing a loamy-silt soil mix in the nursery location. Tarocco cultivar buds were prepared from a seven-year-old mother orchard and T-budding was performed in June (during rootstock bark slipping). All hormone treatments were applied after graft union and before bending the branch using a soft brush on the graft buds. The applied treatments included hormone treatment (control, 5000 mg.l⁻¹ benzyladenine, 1000 mg.l⁻¹ kinetin, and 50 mg.l⁻¹ thidiazuron) and treatment time (13, 15, and 17 days after grafting). After two months, some traits related to budbreak and growth of the grafted buds were evaluated.

Results and Discussion

The results showed that thidiazuron and benzyladenine treatments had better effects compared to kinetin treatment on spring budbreak and initial growth of Tarocco grafted buds. In a way that 50 mg.l⁻¹ thidiazuron treatment had the highest number of sprouted buds (67.91), largest leaf area (118.04 cm²), highest number of leaves (16.50), especially when applied 13 days after grafting. Also, in leaf size related traits, leaf area indices, graft growth rate as well as chlorophyll and carotenoid content of Tarocco graft leaves were significantly affected by different hormonal treatments and application times, with 50 mg.l⁻¹ thidiazuron being more effective than other treatments. Cytokinins can promote division and expansion of leaf cells and thereby result in increased cell numbers and improvement of different leaf parameters. Also, cytokinins regulate important physiological processes like photosynthesis. Application



©2024 The author(s). This is an open access article distributed under [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

<https://doi.org/10.22067/jhs.2024.87914.1343>

of these materials provides cell division especially in areas like buds and growth points and also possibly more buds may form on the spring graft by using these treatments during the grafting process which can lead to increased bud break and faster plant growth (Cook & Bahar, 2017). Increasing cytokinin levels can stimulate the photosynthesis process which results in increased food production, leaf growth and ultimately increased leaf area. On the other hand, cytokinins affect plant metabolism and can regulate production and accumulation of different growth factors. This may lead to a better balance in nutrient distribution and metabolic activities which in turn aids leaf area increase (Hodchek *et al.*, 2023). Finally, according to the obtained results, it can be recommended to nurserymen of this cultivar to use 50 mg.L⁻¹ thidiazuron 13 days after grafting as a practical and effective strategy for increasing spring budbreak, growth and development of Tarocco buds grafted on citrumelo.

Conclusions

In general, based on the results, the application of 50 mg.l⁻¹ of thidiazuron 13 days after grafting can be considered a practical and effective strategy to enhance bud awakening, as well as the growth and development of Tarocco spring shoots on citrumelo. This practice is recommended for producers of seedlings of this cultivar.

Keywords: Benzyl adenine, Blood orange, Bud dormancy, Thidiazuron

مقاله پژوهشی

جلد ۳۸، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۳، ص. ۷۶۳-۷۷۵

تأثیر تیمار سایتوکینین روی برخی از صفات ریخت‌شناختی و فیتوشیمیایی پیوندک بهاره 'تاراکو' روی پایه 'سیتروملو'

سید محمود غلامی^۱ - مهدی حدادی نژاد^{۲*} - حسین مرادی^۳ - حسین صادقی^۴

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۲/۲۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۵/۲۳

چکیده

رقم 'تاراکو' یکی از محبوب‌ترین ارقام پرتقال خونی به‌شمار می‌آید که ازدیاد آن از طریق پیوند روی پایه پررشد 'سیتروملو' صورت می‌گیرد، ولی در پیوند بهاره دچار رکود می‌شود. با توجه به نقش سایتوکینین‌ها در بیدار شدن و رشدونمو جوانه‌ها، پژوهش حاضر به‌منظور بررسی اثر زمان (۱۳، ۱۵ و ۱۷ روز پس از پیوند) و غلظت ترکیبات سایتوکینینی (۵۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین، ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر کینتین و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر تی‌دiazورون) بر رفع رکود و برخی صفات پیوندک بهاره 'تاراکو' روی پایه پررشد 'سیتروملو' در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری انجام شد. نتایج نشان داد که زمان و نوع هورمون اثر معنی‌داری روی رفع رکود و رشد پیوندک بهاره 'تاراکو' دارند، به‌طوری‌که اعمال تیمار هورمونی تی‌diazورون ۱۳ روز پس از پیوندزنی منجر به رفع رکود در بیش از ۹۰ درصد پیوندک‌ها گردید. همچنین مشخص شد که تیمارهای تی‌diazورون و بنزیل آدنین نتیجه بهتری در مقایسه با تیمار کینتین روی بیدار شدن جوانه و رشد اولیه پیوندک بهاره 'تاراکو' داشتند. تیمار ۵۰ میلی‌گرم در لیتر تی‌diazورون، بیشترین تعداد جوانه شکفته شده (۹۱/۶۷)، سطح برگ (۱۱۸/۰۴ سانتی‌متر مربع) و تعداد برگ (۱۶/۵۰) را به‌ویژه در زمان اعمال ۱۳ روز پس از پیوندزنی دارا بود. به‌طور کلی، با توجه به نتایج به‌دست آمده، استفاده از ۵۰ میلی‌گرم در لیتر تی‌diazورون در ۱۳ روز پس از پیوندزنی را می‌توان به‌عنوان یک راهکار عملی و مؤثر به‌منظور افزایش بیدار شدن جوانه و رشدونمو پیوندک بهاره رقم 'تاراکو' روی پایه 'سیتروملو' برای تولیدکنندگان نهال این رقم توصیه نمود.

واژه‌های کلیدی: بنزیل آدنین، پرتقال خونی، تی‌diazورون، رکود جوانه

مقدمه

پررشد 'سیتروملو' (دورگ بین نارنج سه‌برگ و گریپ‌فروت) عرضه می‌شود (Albrigo et al., 2019; Talon et al., 2020). از مشکلات عمده نهال‌کاران در کوپیوند بهاره رقم 'تاراکو' روی پایه پررشد 'سیتروملو'، عدم بیداری (راکد ماندن) حدود ۵۰ درصد از پیوندک‌ها نسبت به دیگر ارقام روی همین پایه و دیگر پایه‌های مشابه می‌باشد. این رکود ناخواسته منجر به تأخیر یک‌ساله در روند تولید نهال و اشغال فضای نهالستان می‌گردد، تا جایی که رشد زیاد پایه منجر به پوشاندن پیوندک می‌گردد. با توجه به اهمیت تجاری پرتقال خونی و آثار منفی خواب پیوند بر عملکرد و عمر میوه، راهکارهایی برای مهار و رفع این مشکل مورد استفاده قرار می‌گیرد. یکی از راهکارهای مؤثر کاربرد تنظیم‌کننده رشد می‌باشد. اخیراً برخی از نهال‌کاران جهت رفع این

خواب پیوندک، یکی از مشکلات مهم در نهالستان‌های درختان میوه است که پس از انجام و گرفتن پیوند رخ می‌دهد و در بسیاری از گیاهان نظیر پرتقال (*Citrus sinensis*) نیاز به بررسی دارد. خواب پیوندک شامل توقف رشد افقی و عمودی، عدم تولید جوانه و فعالیت پیوندک پس از گرفتن پیوند است. یکی از ارقام تجاری پرتقال توسرخ، 'تاراکو' نام دارد که حاصل جهش شاخه‌ای بوده و اولین بار در کشور ایتالیا شناسایی شده است. رقم 'تاراکو' با داشتن شاخه‌هایی پررشد و پوست ضخیم‌تر از جمله ارقام جدیدی است که نسبت به ارقام خونی قدیمی‌تر، به‌دلیل درشتی و سال‌آوری کمتر، از بازارپسندی بیشتری نیز برخوردار می‌باشد. نهال این رقم روی پایه‌های 'نارنج'، 'سیترنج' و پایه

۱، ۲ و ۳- به‌ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، استادیار و دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

(*)- نویسنده مسئول: (Email: m.hadadinejad@sanru.ac.ir)

جوانه پیوندک داشت. کینتین با غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر بیشترین ارتفاع پیوندک را در دو زمان خم کردن به همراه داشت. بنابراین، هدف از این مطالعه بررسی اثرات غلظت سایتوکینین و زمان تیمار بر شکستن رکود جوانه در پیوندک‌های پرتقال خونی پیوند شده روی پایه 'سیتروملو' می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در یک نهالستان مرکبات خصوصی واقع در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، از زمستان ۱۳۹۹ تا تابستان ۱۴۰۱ انجام شد (شکل ۱). در سال اول، پایه 'سیتروملو' به صورت دانه‌ای در محل نهالستان در گلدان‌های ۳/۵ لیتری در بستر لومی سلیتی پرورش یافت. پیوندک رقم 'تاراکو' از باغ مادری هفت‌ساله تهیه و عملیات پیوند جوانه به روش T معکوس در خرداد ماه سال ۱۴۰۱ (زمان پوست‌دهی پایه) انجام شد. تیمارهای اعمال شده شامل تیمار هورمونی (شاهد (آب مقطر)، ۵۰۰۰ میلی گرم در لیتر بنزیل آدنین، ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر کینتین و ۵۰ میلی گرم در لیتر تی‌دیازورون) و زمان اعمال تیمار (۱۳، ۱۵ و ۱۷ روز پس از پیوند) بود. پس از رشد پیوندک، در صورت بیدار شدن چندین جوانه و جست، نسبت به حذف جوانه‌های ضعیف‌تر (ناقص و کوچک) اقدام شد. پس از رشد کافی پیوندک‌ها، برخی از صفات مرتبط با بیدار شدن جوانه و رشد پیوندک‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت.

اندازه‌گیری صفات

صفات ریخت‌شناختی (تعداد جوانه‌های شکفته، تعداد گره، تعداد برگ و سطح برگ)، صفات زیستی (وزن تر و خشک شاخساره، شاخص سطح برگ، سطح ویژه، ضخامت و تراکم برگ) و صفات فیزیولوژیکی (کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید) پیوندک پس از دو ماه، با بیدار شدن جوانه و رشد پیوندک‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت.

سطح برگ

پس از ثبت تصویر از برگ، اندازه‌گیری سطح برگ با استفاده از نرم‌افزار گرافیکی انجام شد. برای این کار، ابتدا برگ‌های مورد نظر را از گیاه جدا نموده، آن‌ها را به آزمایشگاه منتقل کرده و با استفاده از اسکنر، اسکن نموده و به صورت تصویر ذخیره گردید. سپس با استفاده از نرم‌افزار گرافیکی فتوشاپ (PS cs5 extended ver12 64x) (1990-2010) ابتدا آن را کالیبره کرده و سپس اندازه‌گیری‌ها براساس پیکسل انجام گرفت و در نهایت، به سانتی‌متر مربع تبدیل شد.

مشکل با استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد، اقدام به تیمار پیوندک در ماه‌های خرداد و تیر می‌نمایند (Tanavardi et al., 2013). سایتوکینین‌ها به عنوان گروهی از هورمون‌ها با تأثیر مثبت بر رشد و توسعه گیاهان شناخته شده‌اند. بررسی‌ها نشان داده است که سایتوکینین‌هایی نظیر کینتین، گروه مهمی از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی می‌باشند که می‌توانند بر روی تحریک رشد جوانه پیوندک در نارنگی مؤثر باشند (Yadav & Saini, 2018; Sosnowski et al., 2023). بر حسب زمان یا محل به کارگیری هورمون، ممکن است شکل‌گیری یا از بین رفتن یک لایه سلولی تسریع یا ممانعت شود. غلظت زیاد هورمون در برخی از بافت‌ها، منجر به انحراف مسیر طبیعی رشد اندام می‌گردد و گاهی می‌تواند منجر به کاهش شدید یا افزایش شدید رشد تا حد مرگ بوته‌های حساس شود (Hollobone, 2020; Martin, 2020).

به نظر می‌رسد که غلظت بهینه سایتوکینین در زمان مناسب بتواند از طریق افزایش تقسیم سلولی و تسریع برقراری ارتباط آوندی پایه و پیوندک و یا با خنثی کردن بازدارنده‌های رشد، موجب فعال شدن محرک‌های رشد گردیده و ضمن رفع رکود جوانه در پیوندک بهار، منجر به افزایش بهره‌وری نهالستان شود. این ترکیبات به طور معمول در شاخص‌های رشد، جوانه‌زنی، تقسیم سلولی و تنظیم فعالیت جوانه‌ها نقش دارند. تحقیقات قبلی نشان داده است که سایتوکینین‌ها می‌توانند تأثیر قابل توجهی بر رفع خواب پیوند در بسیاری از گیاهان داشته باشند. در مطالعه انجام شده توسط تان و همکاران (Tan et al., 2019)، اثرات رشدی سایتوکینین‌ها بر خواب پیوندک در درختان سیب (Malus spectabilis) ارزیابی شد. نتایج نشان داد که کاربرد سایتوکینین‌ها منجر به رشد مستقیم جوانه پیوندک، افزایش جوانه‌زنی و بهبود عملکرد شده است. به طور مشابه، در تحقیق صورت گرفته توسط نیدز و بومن (Niedz & Bowman, 2023) نقش سایتوکینین‌ها در بهبود کارایی پیوند مرکبات بررسی شد. نتایج نشان داد که سایتوکینین‌ها با ایجاد اختلال در سرکوب اکسینی که توسط جوانه انتهایی اعمال می‌شود، در بهبود شکستن خواب برگ‌های جانبی مؤثر هستند. این نتایج نشان می‌دهد که سایتوکینین‌ها می‌توانند به عنوان یک روش مؤثر در رفع خواب پیوند در گیاهان مثل پرتقال خونی نیز مورد استفاده قرار گیرند. تانوردی و همکاران (Tanavardi et al., 2013) به منظور بررسی کاربرد غلظت‌های مختلف کینتین و اثر خم کردن پایه از بالای محل پیوندک بر تحریک رشد جوانه پیوندک و صفات رویشی در ازدیاد رقم نارنگی 'میگاوا' با پایه 'سیتروملو'، آزمایشی در شرایط گلخانه‌ای انجام دادند. تیمار کینتین با غلظت ۱۵۰۰ میلی گرم در لیتر قبل از عملیات خم کردن و با غلظت ۱۵۰۰ میلی گرم در لیتر بعد از عملیات خم کردن، تأثیر بیشتری در فاکتور رشد



شکل ۱- نهالستان محل اجرای آزمایش

Figure 1- The nursery where the experiment was conducted

سانتریفیوژ با دور ۱۳۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه، مایع روشن‌آور جدا گردیده و اندازه‌گیری طیف نور جذبی محلول با دستگاه اسپکتوفتومتر مدل PC۱۸۰۰UV در طول موج‌های ۶۴۵، ۶۴۶، ۶۶۳ و ۴۷۰ نانومتر انجام شد. در نهایت، با استفاده از معادلات زیر مقدار کلروفیل a، b، کل و کارتنوئیدها محاسبه شد (Arnon, 1949):

(۵)

$$[12.7 \times A663] - (2.69 \times A645) \times V/W \times 1000$$

 = میلی‌گرم کلروفیل a در هر گرم برگ تر

$$[22.9 \times A645] - (4.69 \times A663) \times V/W \times 1000$$

 = میلی‌گرم کلروفیل b در هر گرم برگ تر

$$[20.2 \times A646] + (8.02 \times A663) \times V/W \times 1000$$

 = میلی‌گرم کلروفیل کل در هر گرم برگ تر

$$[1000 \times A470] - (1.8 \times Chla) - (85.02 \times Chlb) \times V/W \times 1000$$

 = میلی‌گرم کارتنوئید در هر گرم برگ تر
 آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو فاکتور شامل تیمار هورمونی و زمان اعمال تیمار با چهار تکرار و هر تکرار شامل دو گلدان به اجرا در آمد. تجزیه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 و مقایسه میانگین‌ها از طریق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال یک درصد انجام شد.

نتایج و بحث

براساس نتایج این پژوهش، پیوندهایی که تحت تأثیر تیمارهای هورمونی نبودند، دچار رکود شده و جوانه نرزدند و از آنجاکه جوانه بیدار شده‌ای نداشتند (راکد ماندند). برای کاهش میزان خطای تجزیه، شاهد (عدم اعمال تیمار هورمونی) مورد تجزیه قرار نگرفت.

سطح ویژه برگ

از تقسیم سطح برگ (سانتی‌مترمربع) بر وزن خشک برگ (گرم) به دست آمد.

$$(LA1/LW1 + LA2/LW2)/2 \quad (۱)$$

که در آن، LA: سطح برگ و LW: وزن خشک برگ می‌باشند.

ضخامت برگ

از تقسیم وزن تر برگ (گرم) بر سطح برگ (سانتی‌مترمربع) به دست آمد.

$$(وزن تر برگ) / (سطح برگ) \quad (۲)$$

تراکم برگ

تراکم برگ نمونه‌ها از تقسیم وزن خشک برگ (میلی گرم) بر وزن تر برگ (گرم) به دست می‌آید (Xiong et al., 2016).

$$(وزن خشک برگ) / (وزن تر برگ) \quad (۳)$$

نرخ رشد مطلق (AGR)

نرخ رشد مطلق بیشتر در مورد یک گیاه و یا یک اندام مشخص از یک گیاه مانند رشد برگ و یا وزن برگ به کار می‌رود و به صورت سانتی‌متر در روز بیان می‌شود.

$$AGR = (h_2 - h_1) / (t_2 - t_1) \quad (۴)$$

که در آن، h_1 و h_2 : به ترتیب ارتفاع بوته در t_1 و t_2 برابر است

کلروفیل و کارتنوئید

جهت اندازه‌گیری میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی ابتدا ۵ گرم از وزن برگ تازه را در پنج میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد سابیده و پس از

صفات ریخت‌شناختی

نتایج بررسی صفات ریخت‌شناختی نشان داد که اثر متقابل تیمار هورمونی و زمان پیوند بر تمامی پارامترها در سطح یک درصد معنی‌دار شده است (جدول ۱).

نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که در بین تیمارهای مورد بررسی بیشترین تعداد جوانه‌های شکفته شده (۹۱/۶۷ درصد) پیوندک بهاره 'تاراکو' در تیمار ۵۰۰۰ میلی گرم در لیتر بنزیل آدنین در هر سه زمان اعمال تیمار مشاهده شد که البته با تیمار ۵۰ میلی گرم در لیتر تی‌دیازورون در زمان ۱۳ روز پس از پیوندزنی اختلاف معنی‌داری نشان نداد (جدول ۲). از طرف دیگر، کمترین تعداد جوانه‌های شکفته شده (۱۳/۶۳ درصد) در تیمار ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر کینتین در زمان ۱۵ روز پس از پیوندزنی مشاهده شد. نتایج نشان داد که با کاهش فاصله زمانی بین پیوند و تیمار هورمونی در تی‌دیازورون، درصد شکوفایی پیوندک از ۳۳ درصد (روز ۱۷) به ۶۶ درصد (روز ۱۵) افزایش و در نهایت، به ۹۱ درصد (روز ۱۳) رسید.

بررسی مقایسه میانگین‌ها حاکی از آن بود که کمترین تعداد گره (۵/۷۵) در تیمار ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر کینتین در زمان ۱۷ روز پس از پیوندزنی مشاهده شد و سایر تیمارها اختلاف اندکی با یکدیگر نشان دادند (جدول ۲).

بنزیل آدنین و کینتین، سایتوکینین‌های نوع آدنین با ساختار شیمیایی مشابه هستند، اما در BA، یک گروه بنزیل را می‌توان به‌جای

گروه فورفوریل یافت. بنزیل آدنین و کینتین دارای تنها یک حلقه آروماتیک (بنزن یا پیریدین) هستند که به حلقه آدنین متصل می‌شود، اما تی‌دیازورون دارای دو حلقه آروماتیک (بنزن و پیرازین) است که با پل آمینی به هم متصل می‌شوند (Bozsó & Barna, 2021). سه ترکیب بنزیل آدنین، کینتین و تی‌دیازورون همگی جزء سایتوکینین‌ها محسوب می‌شوند که دارای تفاوت‌های ساختاری مهمی هستند و این تفاوت‌ها خود باعث تداخل‌هایی در فرآیندهای رشدونمو می‌گردند. بنزیل آدنین، ساده‌ترین ساختار را دارد و تحریک‌کننده اصلی رشد طولی ساقه و ریشه است (Mangena, 2022). کینتین علاوه‌بر رشد طولی، بر تقسیم سلولی و افزایش اندازه اندام‌های گیاهی نیز تأثیر می‌گذارد (Nielsen et al., 1993). تی‌دیازورون به‌عنوان قوی‌ترین پیچیده‌ترین ساختار سبب تحریک همزمان رشد طولی و قطری می‌شود و بر تقسیم سلولی بیشتر اثر می‌گذارد. با افزایش پیچیدگی ساختار شیمیایی، تأثیر بر فرآیندهای گیاهی نیز افزایش می‌یابد (Kim & Sivanessan, 2016). سایتوکینین با تنظیم فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و عمل به‌عنوان یک پاک‌کننده مؤثر رادیکال‌های آزاد، نقش اساسی در رشد کالوس ایفا می‌کند. چوبی شدن و اتصال آوندی مناسب در پیوندک‌های تحت تیمار با سایتوکینین ممکن است دلیل موفقیت در گبرایی پیوند و رشد خوب پیوندک باشد که ممکن است منجر به افزایش طول ساقه و سطح برگ در پیوندک شود (Jogaiah & Porika, 2023).

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات ریخت‌شناختی رقم 'تاراکو' پیوند شده روی پایه 'سیتروملو'

Table 1 - ANOVA for the morphological characteristics of 'Taracco' scion on the 'Citromelo' rootstock

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean squares							رشد مطلق AGR
		شکفتن جوانه Bud break	تعداد گره Node number	تعداد برگ Leaf number	سطح برگ Leaf area	سطح ویژه برگ Specific leaf area	ضخامت برگ Leaf thickness	تراکم برگ Leaf density	
تیمار هورمونی Hormone treatment (H)	2	9130**	8.18**	114.2**	1534**	66733**	0.00025**	2720**	0.563**
زمان پیوند Grafting time (T)	2	3130**	34.7**	61.7**	4504**	4856**	0.00014**	11100**	0.247**
H × T	4	937**	21.9**	52.5**	2536**	29139**	0.00015**	3251**	0.182**
خطا Error	27	7	1.5	1.8	25	823	0.000001	277	0.001
ضریب تغییرات C.V (%)		4.20	10.18	10.27	5.61	9.63	3.06	5.87	9.28

** : معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد.

** : significant at 1% of probability level.

AGR: Absolute Growth Rate

تأخیر در انجام تیمارهای سایتوکینینی ممکن است منجر به کاهش تعداد جوانه‌های شکفته شده در پیوندک بهاره 'تاراکو' روی 'سیتروملو' شود. مشخص شده است که اثر تیمارهای سایتوکینینی به‌طور موقتی است و به مرور زمان کاهش می‌یابد. اگر تیمارها به‌موقع انجام نشوند و یا با تأخیر انجام شوند، این تأثیر کمتر خواهد بود و احتمالاً تعداد جوانه‌های شکفته شده کاهش خواهد یافت. همچنین، با تأخیر در انجام این تیمارها، تعداد جوانه‌های شکفته شده کمتر می‌شود، چرا که این تأخیر می‌تواند فرصت کمتری برای رشد و جوانه‌زنی به‌وجود آورد (Tan et al., 2019; Bidabadi et al., 2018; Morris et al., 1990). اثر مثبت سایتوکینین‌ها بر تعداد گره نیز قبلاً توسط پیوندی و همکاران (Peyvandi et al., 2015) در گیاه اسطوخودوس و سالک معراجی و همکاران (Salek Mearaji et al., 2021) در ارقام گیاه کینوا گزارش شده است که با نتایج بررسی حاضر مطابقت دارد. سایتوکینین‌ها در تنظیم رشد و توسعه گیاهان نقش مهمی دارند و می‌توانند تعداد گره‌های پیوندک جوانه مرکبات پیوند شده روی پایه 'سیتروملو' را تحت تأثیر قرار دهند. سایتوکینین‌ها می‌توانند با تنظیم تقسیم سلولی، تأثیر مستقیمی بر تعداد گره‌های پیوندک جوانه داشته باشند. با افزایش میزان سایتوکینین‌ها، تشکیل شاخه در گیاهان تحریک می‌شود (Shoja & Shishavani, 2021; Lorteau et al., 2001) که منجر به افزایش تعداد گره‌های پیوندک جوانه مرکبات شود.

در مجموع، اعمال تیمار در زمان ۱۳ روز پس از پیوندزنی باعث ایجاد گیاهانی با بیشترین تعداد برگ گردید (جدول ۲). این روند نشان‌دهنده آن است که تیمار در زمان‌های ابتدایی پیوندزنی می‌تواند بیشترین تأثیر را بر تعداد برگ گیاهان رشد کرده داشته باشد. تیمار ۵۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین در زمان ۱۳ روز پس از پیوندزنی باعث تولید گیاهانی با بیشترین تعداد برگ (۱۶/۷۵) شد که البته با برخی از تیمارها به‌ویژه با تیمار ۵۰ میلی‌گرم در لیتر تی‌دیازورون در زمان ۱۳ روز پس از پیوندزنی اختلاف معنی‌داری را نشان نداد (جدول ۲). نتایج بررسی حاضر در مورد افزایش تعداد برگ با تیمارهای مختلف سایتوکینینی با سالک معراجی و همکاران (Salek Mearaji et al., 2021) در گیاه کینوا (*Chenopodium quinoa*) و صبور و شکری (Saboora & Shokri, 2014) در گیاه دارویی برازمیل (*Perovskia atriplicifolia*) مطابقت دارد. تعداد برگ‌های پیوندک جوانه مرکبات پیوند شده روی پایه 'سیتروملو' ممکن است تحت تأثیر سایتوکینین‌ها قرار بگیرد که می‌تواند دلایل مختلفی داشته باشد. سایتوکینین‌ها می‌توانند تقسیم سلولی را در جوانه‌ها و برگ‌های جانبی تنظیم کنند. با افزایش سطح سایتوکینین، تقسیم سلولی در جوانه‌های جانبی تحریک می‌شود که منجر به افزایش تعداد برگ‌های پیوندک جوانه می‌شود (Chamani et al., 2013; Maxwell & Kieber, 2001).

2005). با افزایش سایتوکینین، جذب و توزیع مواد غذایی به برگ‌ها و جوانه‌ها افزایش می‌یابد که ممکن است منجر به افزایش تعداد برگ‌های پیوندک جوانه مرکبات شود (Sosnowski et al., 2019; Wu et al., 2021; Skalak et al., 2023). بیشترین سطح برگ پیوندک بهاره 'تاراکو' در ۱۳ روز پس از پیوندزنی مشاهده شد (جدول ۲). این روند نشان‌دهنده آن است که اعمال تیمارهای سایتوکینینی در اوایل زمان پیوندزنی، نتیجه بهتری در مورد افزایش سطح برگ پیوندک بهاره 'تاراکو' روی 'سیتروملو' دارد. در بین تیمارهای اعمال شده، تیمار ۵۰ میلی‌گرم در لیتر تی‌دیازورون در زمان ۱۳ روز پس از پیوندزنی، بیشترین سطح برگ (۱۱۸/۰۴) سانتی‌متر مربع) را به خود اختصاص داده بود، البته از لحاظ آماری با تیمار ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر کینتین در زمان ۱۳ روز پس از پیوندزنی (۱۱۳/۷۱) سانتی‌متر مربع) و تیمار ۵۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین در زمان ۱۷ روز پس از پیوندزنی (۱۰۹/۰۱) سانتی‌متر مربع) اختلاف معنی‌داری نشان نداد (جدول ۲). این در حالی بود که تیمار ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر کینتین در زمان ۱۷ روز پس از پیوندزنی، کمترین سطح برگ (۱۱۸/۰۴) سانتی‌متر مربع) را نشان داد (جدول ۲). تیمار سایتوکینین می‌تواند به تشکیل بافت‌های جدید کمک کند. این بافت‌ها می‌توانند شامل سلول‌های جدید با ساختار و ویژگی‌های مختلف باشند و باعث افزایش سطح برگ‌ها شوند. همچنین، تیمار سایتوکینین ممکن است به تمایز و تفکیک سلول‌ها در مناطق مختلف برگ کمک کند. این تفکیک‌بندی جدید سلول‌ها ممکن است که منجر به افزایش سطح برگ‌ها شود (Hudeček et al., 2023; Wu et al., 2021; Giron et al., 2007). نتایج بررسی حاضر با یافته‌های سالک معراجی و همکاران (Salek Mearaji et al., 2021) و گونزالز و همکاران (Gonzalez et al., 2012) در مورد اثرات مثبت انواع مختلف تیمارهای سایتوکینینی بر ویژگی‌ها و شاخص‌های مختلف سطح برگ مطابقت دارد. تیمارهای هورمونی سایتوکینینی می‌توانند اثرات متعددی بر رشد و توسعه گیاهان داشته باشند. یکی از این تأثیرات، افزایش سطح ویژه برگ‌ها می‌باشد. دلیل اصلی این افزایش به تأثیرات سایتوکینین در رشد و توسعه بافت‌های گیاهی و تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیکی مرتبط با رشد گیاهان برمی‌گردد. تیمارهای هورمونی کینتینی می‌توانند به‌طور مستقیم و غیرمستقیم نرخ رشد مطلق گیاهان را افزایش دهند. کینتین‌ها، تقسیم سلولی را تحت تأثیر قرار می‌دهند و باعث افزایش تعداد سلول‌ها می‌شوند. این تغییرات در تقسیم سلولی ممکن است به نرخ رشد مطلق گیاهان کمک کنند. کینتین‌ها می‌توانند رشد ساقه‌ها و برگ‌ها را تنظیم کنند. کینتین‌ها ممکن است در تنظیم توازن هورمونی گیاهان نقش داشته باشند. تعاملات بین سایتوکینین‌ها و دیگر هورمون‌ها مانند اکسین‌ها می‌تواند به تنظیم رشد و توسعه گیاهان کمک کند. کینتین‌ها ممکن است توزیع مواد مغذی در گیاه را

بهبود دهند و تأمین منابع غذایی به اندازه کافی برای رشد بهتر گیاهان کمک کنند (Ghanem et al., 2011).

مقایسات میانگین نشان داد که در هر یک از زمان‌های اعمال تیمارهای هورمونی، تیمار ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر کینتین بیشترین ضخامت برگ را دارا بود (جدول ۲). تأثیر سایتوکینین بر رشد و توسعه گیاهان به‌خصوص در مرحله توسعه برگ‌ها مورد توجه قرار گرفته است. سایتوکینین‌ها به‌عنوان هورمون‌های گیاهی مهمی شناخته می‌شوند که در تنظیم رشد و توسعه گیاهان نقش مهمی دارند (Sosnowski et al., 2023). تغییرات ابعاد و اندازه برگ توسط انواع مختلف هورمون‌های سایتوکینینی قبلاً هم توسط دی بندتو و همکاران (Di Benedetto et al., 2015) در گیاه پتوس (*Epipremnum aureum*) و محمود و همکاران (Mehmood et al., 2021) در گیاه کنجد (*Sesamum indicum*) گزارش شده است که هم‌راستا با نتایج بررسی حاضر می‌باشد. سایتوکینین‌ها می‌توانند تنظیم‌کننده‌های رشد ضخامتی باشند. با افزایش سایتوکینین، رشد ضخامتی برگ‌ها تحریک می‌شود و ضخامت برگ‌ها افزایش می‌یابد. در مرحله توسعه برگ‌ها، سایتوکینین‌ها تأثیر قابل توجهی بر رشد سلولی دارند. زمانی که سطح سایتوکینین‌ها در گیاه افزایش می‌یابد، این هورمون‌ها باعث افزایش انبساط سلولی می‌شوند، این انبساط سلولی منجر به افزایش اندازه برگ‌ها و افزایش ضخامت آن‌ها می‌گردد (Wu et al., 2021). کینتین یک نوع سایتوکینین است و در فرایندهای رشد و توسعه گیاهان نقش دارد. این هورمون می‌تواند با تحریک تقسیم سلولی در مناطق مختلف برگ، تعداد سلول‌ها را افزایش داده و این می‌تواند به‌طور مستقیم منجر به افزایش ضخامت برگ شود. کینتین می‌تواند ترکیباتی را فعال کند که به افزایش حجم سلول‌ها کمک می‌کنند. این امر باعث می‌شود که سلول‌ها بزرگ‌تر شوند و ضخامت برگ افزایش یابد. کینتین می‌تواند ترتیب و نحوه رشد سلول‌ها را تنظیم کند. با تغییر الگوهای رشد، ممکن است سلول‌ها به شکل‌ها و ساختارهای مختلفی رشد کنند که منجر به افزایش ضخامت برگ می‌شود (Tabeta et al., 2023; Gonzalez et al., 2012; Holst et al., 2011).

در مجموع، بیشترین تراکم برگ در زمان ۱۳ روز پس از پیوندزنی و در تیمار ۵۰ میلی گرم در لیتر تی‌دیازورون مشاهده شد که البته از لحاظ آماری با برخی از تیمارها اختلاف معنی‌داری نشان نداد (جدول ۴). این روند نشان‌دهنده آن است که اعمال تیمارهای سایتوکینینی در زمان‌های ابتدایی پیوندزنی می‌تواند بیشترین تأثیر را بر تراکم برگ پیوندک‌های رشد کرده داشته باشد. سایتوکینین‌ها، گروهی از هورمون‌های گیاهی هستند که در ریشه‌ها تولید می‌شوند و به‌صورت آکروپتال به سمت بالا حرکت کرده و رشد شاخه‌ها را تحریک می‌کنند. این هورمون‌ها همچنین می‌توانند فعالیت سینک برگ‌های قدیمی را حفظ کنند و با کاهش تجزیه پروتئین، فعالیت نیتروژنی و

افزایش غلظت پروتئین در برگ‌های قدیمی، پیری برگ‌ها را به تأخیر بیندازند، که این تأخیر موجب حفظ برگ‌های پیر، در کنار برگ‌های جوان می‌شود (Glanz-Idan et al., 2022). تی‌دیازورون می‌تواند به تشکیل بافت‌های جدید کمک کند. با افزایش تشکیل بافت‌ها، سلول‌ها، بافت‌های جدیدی را ایجاد می‌کنند که در نهایت، منجر به افزایش تراکم برگ‌ها می‌شود. همچنین، تیمار تی‌دیازورون ممکن است به تغییر الگوهای رشد سلول‌ها منجر شود. این تغییرات می‌تواند به افزایش تراکم برگ‌ها منجر شود (Tabeta et al., 2023; Gonzalez et al., 2012). در پژوهشی، تأثیر سایتوکینین بر تراکم برگی درختان ماندارین (*Citrus reticulata* Blanco) پس از پیوند مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که استفاده از پایه‌هایی که سایتوکینین بیشتری تولید می‌کنند، منجر به افزایش تراکم برگی درختان شده است. این تغییرات در تراکم برگی به دلیل تغییرات در ترکیبات متابولیتیک برگ‌ها بود. برخی از ترکیبات متابولیتیک مانند اسیدهای آلی، فلاونوئیدها، آمینواسیدها و مشتقات آن‌ها، آلکالوئیدها و نوکلوئیدها و مشتقات آن‌ها در برگ‌هایی که با پایه‌هایی که سایتوکینین بیشتری تولید می‌کنند پیوند خورده‌اند، تغییر کرده بودند. این تغییرات در ترکیبات متابولیتیک می‌تواند به تغییرات در تراکم برگی منجر شود (Hayat et al., 2022).

نتایج نشان داد که در تمامی زمان‌ها اعمال تیمارهای هورمونی، پیوندک‌های تیمار شده با ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر کینتین بیشترین AGR را به خود اختصاص داده بودند (جدول ۲). سایتوکینین‌ها تأثیر مثبتی بر تقسیم سلولی دارند که در نتیجه، به افزایش نرخ رشد گیاه منجر می‌شود. این هورمون‌ها تولنایی تحریک جوله‌های جانبی را داشته که باعث افزایش تعداد شاخه‌ها و سایر شاخص‌های رشدی می‌شود (Sosnowski et al., 2023). همچنین می‌تواند فرآیند جوله‌زنی را تحریک کنند و تأثیر مثبتی بر رشد و عملکرد گیاهان داشته باشند (Wu et al., 2021). تیمارهای هورمونی کینتینی می‌تواند به‌طور مستقیم و غیرمستقیم نرخ رشد مطلق گیاهان را افزایش دهند. کینتین‌ها تقسیم سلولی را تحت تأثیر قرار داده و باعث افزایش تعداد سلول‌ها می‌شوند. این تغییرات در تقسیم سلولی ممکن است به نرخ رشد مطلق گیاهان کمک کنند. کینتین‌ها ممکن است در تنظیم توازن هورمونی گیاهان نقش داشته باشند. تعاملات بین سایتوکینین‌ها و دیگر هورمون‌ها مانند اکسین‌ها می‌تواند به تنظیم رشد و توسعه گیاهان کمک کند. کینتین‌ها ممکن است که توزیع مواد مغذی در گیاه را بهبود دهند و در دسترسی گیاهان به مواد غذایی و رشد بیشتر آن‌ها کمک نمایند (Ghanem et al., 2011).

صفات فیتو شیمیایی

بررسی نتایج جدول مقایسه میانگین‌ها نشان داد که تقریباً در تمامی زمان‌های اعمال تیمارهای هورمونی، پیوندک‌های تیمار شده با ۵۰۰ میلی گرم در لیتر بنزیل آدنین، بیشترین سطح ویژه برگ را دارا بودند (جدول ۴).

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل تیمار هورمونی و زمان تیمار بر صفات فیتوشیمیایی در سطح یک درصد معنی دار شده است (جدول ۳).

جدول ۲- صفات ریخت‌شناختی رقم تاراکو پیوند شده روی پایه 'سیتروملو'
Table 2- The morphological traits of 'Taracco' scion on the 'Citromelo' rootstock

زمان تیمار Treatment time	انواع تیمار Types of treatment	جوانه شکفته Bud opening	تعداد گره Node number	تعداد برگ Leaf number	سطح برگ Leaf area (cm ²)	ویژه برگ Specific leaf area (cm ² .g DM ⁻¹)	ضخامت برگ Leaf thickness (g DM.cm ⁻¹)	تراکم برگ Leaf density (mg DM.g FM ⁻¹)	رشد مطلق AGR (g.cm ⁻²)
13	بنزیل آدنین BA	91.67a*	14.00a	15.25abc	105.82b	347b	0.0108f	278bc	0.267e
	کینتین Kinetin	51.00c	13.25a	13.75cde	113.71ab	341b	0.0112f	292b	0.384d
	تی‌دیازورون TDZ	91.67a	15.00a	16.50ab	118.04a	255d	0.0125e	329a	0.249e
15	بنزیل آدنین BA	91.67a	15.00a	16.75a	88.18c	489a	0.0088g	249c	0.271e
	کینتین Kinetin	45.83d	8.75b	12.25de	85.65c	176e	0.0312a	210d	0.651b
	تی‌دیازورون TDZ	66.41b	10.50b	11.25e	64.43d	242d	0.0145c	285b	0.526c
17	بنزیل آدنین BA	91.67a	14.00a	15.00abc	109.01ab	314bc	0.0110f	309ab	0.404d
	کینتین Kinetin	13.63f	5.75c	3.00f	35.96e	239d	0.0155b	311ab	1.079a
	تی‌دیازورون TDZ	33.33e	13.00a	14.00bcd	90.62c	272cd	0.0135d	285b	0.266e

* در هر ستون، اعداد دارای حروف مشابه از نظر آماری در سطح یک درصد با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.

* In each column, the numbers with the same letters are not significant at the %1 of probability levels based on Duncan's multiple range test.

میزان کاروتنوئید به ترتیب در تیمارهای ۵۰ میلی گرم در لیتر تی‌دیازورون در زمان ۱۳ روز پس از پیوندزنی (۱/۶۰ میلی گرم بر گرم وزن تر)، ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر کینتین در زمان ۱۵ روز پس از پیوندزنی (۱/۴۶ میلی گرم بر گرم وزن تر) و ۵۰۰۰ میلی گرم در لیتر بنزیل آدنین در زمان ۱۷ روز پس از پیوندزنی (۱/۴۱ میلی گرم بر گرم وزن تر) به‌دست آمد (جدول ۴). سایتوکینین، یکی از مهم‌ترین هورمون‌های رشد گیاهی است که نقش مهمی در تنظیم بیان ژن‌ها

بررسی رنگدانه‌های فتوسنتزی نشان داد که پیوندک‌های تیمار شده با ۵۰ میلی گرم در لیتر تی‌دیازورون در زمان ۱۳ روز پس از پیوندزنی با ۱/۵۸ میلی گرم بر گرم وزن تر کلروفیل a و با ۱/۹۹ میلی گرم بر گرم وزن تر کلروفیل کل، بیشترین میزان را در بین سایر تیمارها دارا بودند (جدول ۴). این در حالی است که بیشترین میزان کلروفیل b در پیوندک‌های تیمار شده با ۵۰۰۰ میلی گرم در لیتر بنزیل آدنین در ۱۵ روز پس از پیوندزنی مشاهده گردید (جدول ۴). بیشترین

دارد. این هورمون با اتصال به گیرنده‌های پروتئینی خاصی به نام‌های AHK در سلول‌های گیاهی، فرآیندهای گوناگونی را تحت تأثیر قرار می‌دهد که از جمله آن‌ها می‌توان به تحریک بیان ژن‌های مرتبط با رشدونمو اشاره کرد. سایتوکینین باعث فعال‌سازی عوامل رونویسی می‌شود که خود موجب بیان ژن‌ها می‌گردند. بنابراین، سایتوکینین با تنظیم بیان ژن‌های مرتبط با رشد، نقش مهمی در تکامل و گسترش گیاه دارد (Brenner et al., 2012). سایتوکینین با اتصال به گیرنده‌های خاصی به نام AHK در سلول‌های گیاهی فعال می‌شود. این اتصال باعث فعال شدن سلسله مراتب انتقال سیگنال داخل سلولی می‌گردد. در این سلسله مراتب، عامل رونویسی ARR1 که تحت تأثیر سایتوکینین است، فعال می‌شود. سپس ARR1 با اتصال به توالی‌های خاص در محل پروموتور ژن‌های هدف، باعث بیان آن‌ها می‌گردد. ژن‌های هدف عمدتاً شامل عوامل رشدی مانند ژن‌هایی مرتبط با ساخت گیاه، تقسیم سلولی و افزایش اندازه سلول می‌باشند که باعث تکامل و رشد گیاه می‌شوند. بنابراین سایتوکینین از طریق سلسله مراتب انتقال سیگنال داخل سلولی، تنظیم‌کننده بیان ژن‌های مرتبط با رشد است (Osugi & Sakakibara, 2015).

اثرات مثبت تیمارهای مختلف سایتوکینینی بر میزان کلروفیل قبلاً نیز توسط کلاته جاری و همکاران (Kalate Jari et al., 2008) گزارش شده است. سایتوکینین‌ها می‌توانند تأثیر مهمی بر میزان کلروفیل در برگ‌های پیوندک جوانه مرکبات پیوند شده روی پایه 'سیتروملو' داشته باشند. نشان داده شده است که سایتوکینین‌ها می‌توانند تنظیم‌کننده‌های فعالیت آنزیم‌های زایموپلاست باشند.

آنزیم‌های زایموپلاست در فرآیند تولید کلروفیل در برگ‌ها نقش دارند. با افزایش سایتوکینین، فعالیت این آنزیم‌ها تحریک می‌شود که می‌تواند منجر به افزایش میزان کلروفیل در برگ‌ها شود. سایتوکینین‌ها می‌توانند روند تولید کلروفیل در برگ‌ها را تنظیم کنند. با افزایش سایتوکینین، ممکن است که برگ‌ها به‌طور مؤثرتر از نور استفاده کنند و میزان کلروفیل در آن‌ها افزایش یابد. همچنین عواملی از جمله نوع سایتوکینین، غلظت آن، زمان و نحوه کاربرد، شرایط رشد گیاهان و نوع گیاه نیز می‌تواند در اثرگذاری سایتوکینین بر مقدار کلروفیل مؤثر باشد (Glanz-Idan et al., 2022; Zubo et al., 2008; Dobránszki and Mendler-Drienyovszki, 2014).

نتایج بررسی حاضر در مورد اثر تیمارهای سایتوکینینی بر میزان کاروتنوئید برگ با یافته‌های جمشیدی و همکاران (Jamshidi et al., 2018) و صادقی و همکاران (Sadeghi et al., 2022) همخوانی دارد. تیمارهای هورمونی سایتوکینینی می‌توانند باعث افزایش میزان کاروتنوئیدها در برگ‌ها و سایر اجزاء گیاهان شوند. سایتوکینین‌ها می‌توانند فعالیت آنزیم‌های مختلف را در مسیرهای بیوشیمیایی تنظیم کنند. آنزیم‌های مختلفی برای تولید کاروتنوئیدها مشارکت دارند. با تنظیم بهتر فتوسنتز، تولید انرژی و مواد غذایی افزایش می‌یابد که ممکن است به افزایش تولید کاروتنوئیدها کمک کند. کاروتنوئیدها به‌عنوان رنگیزه‌های جذب نور عمل می‌کنند. سایتوکینین‌ها ممکن است به تنظیم جذب نور و توزیع آن در گیاه کمک کنند و در نتیجه، به افزایش تولید کاروتنوئیدها منجر شوند (Gujjar et al., 2020; Zavaleta-Mancera et al., 2007).

جدول ۳- تجزیه واریانس ویژگی‌های رشدی و فیتوشیمیایی رقم 'تاراکو' پیوند شده روی پایه 'سیتروملو'
Table 3 - ANOVA for the growth and phytochemical characteristics of 'Taracco' scion on the 'Citromelo' rootstock

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean squares			
		کلروفیل a Chl a	کلروفیل b Chl b	کلروفیل کل Total chl	کاروتنوئید Carotenoid
تیمار هورمونی Hormone (H)	2	0.0161**	0.2129**	0.0940**	0.1071**
زمان پیوند Grafting time (T)	2	0.0384**	0.0357**	0.0064 ^{ns}	0.0027 ^{ns}
H × T	4	0.1864**	0.0352**	0.2846**	0.1677**
خطا Error	27	0.0029	0.0005	0.0021	0.0116
ضریب تغییرات C.V (%)		4.45	6.16	2.90	8.13

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

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

جدول ۴- صفات رشدی و فیتوشیمیایی رقم 'تاراکو' پیوند شده روی پایه 'سیتروملو'

Table 4- Comparison of means growth and phytochemical traits

زمان تیمار Treatment time	انواع تیمار Types of treatment	کلروفیل a Chl a (mg.g FW ⁻¹)	کلروفیل b Chl b (mg.g FW ⁻¹)	کلروفیل کل Total chl (mg.g FW ⁻¹)	کاروتنوئید Carotenoid (mg.g FW ⁻¹)
13	بنزیل آدنین BA	1.02e*	0.489b	1.51d	1.08e
	کینتین kinetin	1.13d	0.247f	1.37e	1.31bcd
	تی‌دیازورون TDZ	1.58a	0.414c	1.99a	1.60a
15	بنزیل آدنین BA	1.05de	0.702a	1.75b	1.21cde
	کینتین kinetin	1.26b	0.357d	1.62c	1.46ab
	تی‌دیازورون TDZ	1.12de	0.296e	1.41e	1.32bcd
17	بنزیل آدنین BA	1.33b	0.444bc	1.78b	1.44ab
	کینتین kinetin	1.24bc	0.286ef	1.52cd	1.12de
	تی‌دیازورون TDZ	1.14cd	0.301e	1.44de	1.36bc

* در هر ستون، اعداد دارای حروف مشابه از نظر آماری در سطح یک درصد با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.

* In each column, the numbers with the same letters are not significant at the 1% of probability levels based on Duncan's multiple range test.

نتیجه‌گیری

کلروفیل‌ها و کاروتنوئید برگ پیوندک 'تاراکو' نیز به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای مختلف هورمونی و همچنین زمان‌های اعمال تیمار قرار داشتند، به‌طوری‌که تیمار ۵۰ میلی‌گرم در لیتر تی‌دیازورون مؤثرتر از سایر تیمارها بود. در نهایت، با توجه به نتایج به‌دست آمده، استفاده از غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر تی‌دیازورون در ۱۳ روز پس از پیوندزنی را می‌توان به‌عنوان یک راهکار عملی و مؤثر به‌منظور افزایش بیدار شدن جوانه و رشدونمو پیوندک بهاره 'تاراکو' روی 'سیتروملو' برای تولیدکنندگان نهال این رقم توصیه نمود.

نتایج بررسی‌ها نشان داد که تیمارهای تی‌دیازورون و بنزیل آدنین نتیجه بهتری در مقایسه با تیمار کینتین روی بیدار شدن جوانه و رشد اولیه پیوندک بهاره 'تاراکو' داشتند. تیمار ۵۰ میلی‌گرم در لیتر تی‌دیازورون، بیشترین تعداد جوانه‌های شکفته شده (۹۱/۶۷)، سطح برگ (۱۱۸/۰۴ سانتی‌متر مربع)، تعداد برگ (۱۶/۵۰)، وزن تر (۱۲/۸۲ گرم) و وزن خشک شاخساره (۳/۹۰ گرم) را به‌ویژه در زمان اعمال ۱۳ روز پس از پیوندزنی دارا بود. در بررسی ویژگی‌های مرتبط با اندازه برگ، شاخص‌های سطح برگ، میزان رشد پیوندک و نیز میزان

References

- Albrigo, L.G., Stelinski, L.L., & Timmer, L.W. (2019). *Citrus, 2nd Edition*. CABI, 314 p.
- Arnon, D.T. (1949). Copper enzymes in isolation chloroplast phenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 24, 1-15. <https://doi.org/10.1104/pp.24.1.1>
- Bidabadi, S.S., Afazel, M., & Sabbatini, P. (2018). Iranian grapevine rootstocks and hormonal effects on graft union, growth and antioxidant responses of Asgari seedless grape. *Horticultural Plant Journal*, 4(1), 16-23. (In Persian)

- 4- Bozsó, Z., & Barna, B. (2021). Diverse effect of two cytokinins, kinetin and benzyladenine, on plant development, biotic stress tolerance, and gene expression. *Life*, 11(12), 1404. <https://doi.org/10.3390/life11121404>
- 5- Brenner, W.G., Ramireddy, E., Heyl, A., & Schmülling, T. (2012). Gene regulation by cytokinin in *Arabidopsis*. *Frontiers in Plant Science*, 3, 8. <https://doi.org/10.3389%2Ffpls.2012.00008>
- 6- Chamani, E., Ghasemnejad, M., & Geraylo, S. (2013). *An Introduction to the Physiology of Flowering Plants*. Mohaghegh Ardabili University Press, Ardabil, Iran. 26 pp. (In Persian)
- 7- Di Benedetto, A., Galmarini, C., & Tognetti, J. (2015). Effects of combined or single exogenous auxin and/or cytokinin applications on growth and leaf area development in *Epipremnum aureum*. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 90(6), 643-654. <https://doi.org/10.1080/14620316.2015.11668727>
- 8- Dobránszki, J., & Mender-Drienyovszki, N. (2014.) Cytokinin-induced changes in the chlorophyll content and fluorescence of *in vitro* apple leaves. *Journal of Plant Physiology*, 171(16), 1472-1478. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2014.06.015>
- 9- Ghanem, M.E., Albacete, A., Smigocki, A.C., Frébort, I., Pospíšilová, H., Martínez-Andújar, C., Acosta, M., Sánchez-Bravo, J., Lutts, S., Dodd, I.C., & Pérez-Alfocea, F. (2011). Root-synthesized cytokinins improve shoot growth and fruit yield in salinized tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants. *Journal of Experimental Botany*, 62(1), 125-140. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq266>
- 10- Giron, D., Kaiser, W., Imbault, N., & Casas, J. (2007). Cytokinin-mediated leaf manipulation by a leafminer caterpillar. *Biology Letters*, 3(3), 340-343. <https://doi.org/10.1098%2Frsbl.2007.0051>
- 11- Glanz-Idan, N., Lach, M., Tarkowski, P., Vrobel, O., & Wolf, S. (2022). Delayed leaf senescence by upregulation of cytokinin biosynthesis specifically in tomato roots. *Frontiers in Plant Science*, 13, 922106. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.922106>
- 12- Gonzalez, N., Vanhaeren, H., & Inze, D. (2012). Leaf size control: Complex coordination of cell division and expansion. *Trends in Plant Sciences*, 17, 332-340. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.02.003>
- 13- Gujjar, R.S., Banyen, P., Chuekong, W., Worakan, P., Roytrakul, S., & Supaibulwatana, K. (2020). A synthetic cytokinin improves photosynthesis in rice under drought stress by modulating the abundance of proteins related to stomatal conductance, chlorophyll contents, and rubisco activity. *Plants*, 9(9), 1106. <https://doi.org/10.3390/plants9091106>
- 14- Hayat, F., Li, J., Liu, W., Li, C., Song, W., Iqbal, S., Khan, U., Javed, H.U., Altaf, M.A., Tu, P., Chen, J., & Liu, J. (2022). Influence of citrus rootstocks on scion growth, hormone levels, and metabolites profile of 'Shatangju' mandarin (*Citrus reticulata* Blanco). *Horticulturae*, 8(7), 608. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8070608>
- 15- Hollobone, J. (2020). *Propagation Techniques for Flowers, Vegetables, and Trees: Growing Plants from Seeds, Cuttings, Grafts, Division, and Bulbs*. Company, Incorporated, 192 p.
- 16- Holst, K., Schmulling, T., & Werner, T. (2011). Enhanced cytokinin degradation in leaf primordia of transgenic *Arabidopsis* plants reduces leaf size and shoot organ primordia formation. *Journal of Plant Physiology*, 168, 1328-1334. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2011.03.003>
- 17- Hudeček, M., Nožková, V., Plíhalová, L., & Plíhal, O. (2023). Plant hormone cytokinin at the crossroads of stress priming and control of photosynthesis. *Frontiers in Plant Science*, 13, 1103088. <https://doi.org/10.3389%2Ffpls.2022.1103088>
- 18- Jamshidi, A., Ebrahimi, M.A., Rajabian, T., Bakhshi khaniki, Gh.R., & Mozaffari, S. (2018). Study the effects of auxins and cytokinins on growth, pigments and protein contents of *Chlorella sorokiniana*. *Journal of Plant Research*, 31(2), 303-315. (In Persian)
- 19- Jogaiah, S., & Porika, H. (2023). Scion preconditioning and cytokinin treatment improved graft compatibility in Red Globe grape grafted on Dogridge rootstock. *Indian Journal of Horticulture*, 80(2), 165-170.
- 20- Kalate Jari, S., Khalighi, A., Moradi, F., & Fattahi Moghaddam, M.R. (2009). The effects of cytokinins, sucrose and 8-hydroxyquinoline sulfate on the longevity and postharvest quality of cut rose flowers var. Red Gant. *Iranian Journal of Horticultural Science (IJHS)*, 39(1), 125-135. (In Persian)
- 21- Kim, D.H., & Sivanessan, I. (2016). Influence of benzyladenine and thidiazuron on shoot regeneration from leaf and shoot tip explants of *Sedum sarmentosum* Bunge. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 59, 16150717. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2016150717>
- 22- Lorteau, M.A., Ferguson, B.J., & Guinel, F.C. (2001). Effects of cytokinin on ethylene production and nodulation in pea (*Pisum sativum*) cv. Sparkle. *Physiologia Plantarum*, 112(3), 421-428. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.2001.1120316.x>
- 23- Mangena, P. (2022). Evolving role of synthetic cytokinin 6-benzyl adenine for drought stress tolerance in soybean (*Glycine max* L. Merr.). *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 6, 992581. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2022.992581>
- 24- Martin, F.J. (2020). *Plant Propagation Book: The Process of Creating New Plants*. Independently Published, 84 p.
- 25- Maxwell, B.B., & Kieber, J.J. (2005). Cytokinin signal transduction. In *Plant hormones: biosynthesis, signal transduction, action*. Dordrecht: Springer Netherlands. pp. 329-357.

- 26- Mehmood, M., Pérez-Llorca, M., Casadesús, A., Farrakh, S., & Munné-Bosch, S. (2021). Leaf size modulation by cytokinins in sesame plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 167, 763-770. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.09.013>
- 27- Morris, J.W., Doumas, P., Morris, R.O., & Zaerr, J.B. (1990). Cytokinins in vegetative and reproductive buds of *Pseudotsuga menziesii*. *Plant Physiology*, 93(1), 67-71. <https://doi.org/10.1104/pp.93.1.67>
- 28- Niedz, R.P., & Bowman, K.D. (2023). Improving citrus bud grafting efficiency. *Scientific Reports*, 13(1), 17807. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-44832-x>
- 29- Nielsen, J. M., Brandt, K., & Hansen, J. (1993). Long-term effects of Thidiazuron are intermediate between benzyladenine, kinetin or isopentenyladenine in *Miscanthus sinensis*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 35, 173-179. <https://doi.org/10.1007/BF00032967>
- 30- Osugi, A., & Sakakibara, H. (2015). Q&A: How do plants respond to cytokinins and what is their importance?. *BMC Biology*, 13(1), 1-10. <https://doi.org/10.1186/s12915-015-0214-5>
- 31- Peyvandi, M., Kazemi, L., & Majd, A. (2016). Effect of different cytokinins on micropropagation of *Lavandula vera*. *Journal of Plant Research*, 28(2), 257-263. (In Persian). <https://doi.org/28204>
- 32- Saboori, A., & Shokri, M. (2014). Effect of plant growth regulators on in vitro germination and micropropagation of brazmbl (*Perovskia abrotanoides*), a medicinal plant. *Iranian Journal of Plant Biology*, 5(18), 95-114. (In Persian).
- 33- Sadeghi, F., Sohrabi, Y., & Sio-Se Mardeh, A. (2022). Effect of plant growth regulators on soluble carbohydrates, photosynthetic pigments and chlorophyll fluorescence of Sirvan and Homa wheat cultivars in rainfed and irrigation conditions. *Journal of Crop Production and Processing*, 12(3), 81-100. (In Persian). <http://dx.doi.org/10.47176/jcpp.12.3.36862>
- 34- Salek Mearaji, H., Tavakoli, A., & Sepahvand, N.A. (2021). Evaluating the effect of cytokinin foliar application on morphological traits and yield of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) under optimal irrigation and drought stress conditions. *Journal of Crop Ecophysiology*, 14(56), 479-478. (In Persian). <https://doi.org/10.30495/jcep.2021.679976>
- 35- Shoja, H.M., & Shishavan, H.K. (2021). Effects of different hormonal treatments on growth parameters and secondary metabolite production in organ culture of *Hyssopus officinalis* L. *BioTechnologia*, 102(1), 33-41. <https://doi.org/10.5114%2Fbta.2021.103760>
- 36- Skálák, J., Vercruyssen, L., Claeys, H., Hradilová, J., Černý, M., Novák, O., Plačková, L., Saiz-Fernández, I., Skáláková, P., Coppens, F., Dhondt, S., Koukalová, Š., Zouhar, J., Inzé, D., & Brzobohatý, B. (2019). Multifaceted activity of cytokinin in leaf development shapes its size and structure in Arabidopsis. *Plant Journal*, 97(5), 805-824. <https://doi.org/10.1111/tpj.14285>
- 37- Sosnowski, J., Truba, M., & Vasileva, V. (2023). The impact of auxin and cytokinin on the growth and development of selected crops. *Agriculture*, 13(3), 724. <https://doi.org/10.3390/agriculture13030724>
- 38- Tabeta, H., Gunji, S., Kawade, K., & Ferjani, A. (2023). Leaf-size control beyond transcription factors: Compensatory mechanisms. *Frontiers in Plant Science*, 13, 1024945. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1024945>
- 39- Talon, M., Caruso, M., & Gmitter, J.F.G. (2020). *The Genus Citrus*. Woodhead Publishing, Elsevier Inc. All rights reserved. 538 p.
- 40- Tan, M., Li, G., Chen, X., Xing, L., Ma, J., Zhang, D., Ge, H., Han, M., Sha, G., & An, N. (2019). Role of cytokinin, strigolactone, and auxin export on outgrowth of axillary buds in apple. *Frontiers in Plant Science*, 10, 616. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00616>
- 41- Tanavardi, S., Tafazoli, E.A., Panahi, B., & Samiei, Kh. (2013). *Investigating the effect of using different concentrations of kinetin and bending the stem on stimulating the bud growth of Miyagawa mandarin scion*. 6th National Conference on Watershed Management and Soil and Water Resources Management, Kerman, Iran. (In Persian)
- 42- Wu, W., Du, K., Kang, X., & Wei, H. (2021). The diverse roles of cytokinins in regulating leaf development. *Horticulture Research*, 8(1), 1-13. <https://doi.org/10.1038/s41438-021-00558-3>
- 43- Xiong, D., Wang, D., Liu, X., Peng, S., Huang, J., & Li, Y. (2016). Leaf density explains variation in leaf mass per area in rice between cultivars and nitrogen treatments. *Annals of Botany*, 117(6), 963-971. <https://doi.org/10.1093/aob/mcw022>
- 44- Yadav, R.K., & Saini, P.K. (2018). Plant hormones: Their nature occurrence and functions: A chapter. *European Journal of Biotechnology and Bioscience*, 6(6), 13-17.
- 45- Zavaleta-Mancera, H.A., López-Delgado, H., Loza-Tavera, H., Mora-Herrera, M., Trevilla-García, C., Vargas-Suárez, M., & Ougham, H. (2007). Cytokinin promotes catalase and ascorbate peroxidase activities and preserves the chloroplast integrity during dark-senescence. *Journal of Plant Physiology*, 164(12), 1572-1582. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2007.02.003>
- 46- Zubo, Y.O., Yamburenko, M.V., Selivankina, S.Y., Shakirova, F.M., Avalbaev, A.M., Kudryakova, N.V., Zubkova, N.K., Liere, K., Kulaeva, O.N., Kusnetsov, V.V., & Börner, T. (2008). Cytokinin stimulates chloroplast transcription in detached barley leaves. *Plant Physiology*, 148(2), 1082-1093. <https://doi.org/10.1104/pp.108.122275>

Research Article

Vol. 38, No. 4, Winter 2024, p. 777-789

Evaluating Morphological and Physiological Indices of Iran's Native Daffodils (*Narcissus tazetta*) in Temperate Climate

S. Mirzaei^{1*}, M. Chehrizi²

1- Assistant Professor, Ornamental Plants Research Center, Horticultural Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Mahallat, Iran

(*- Corresponding author's Email: sahar_mirzaei81@yahoo.com)

2- Associate Professor, Department of Horticulture, Chamran University, Ahvaz, Iran

Received: 23-06-2024
Revised: 11-08-2024
Accepted: 13-08-2024
Available Online: 13-08-2024

How to cite this article:

Mirzaei, S., & Chehrizi, M. (2024). Evaluating morphological and physiological indices of Iran's native daffodils (*Narcissus tazetta*) in temperate climate. *Journal of Horticultural Science*, 38(4), 777-789. (In Persian with English abstract).
<https://doi.org/10.22067/jhs.2024.88637.1356>

Introduction

Narcissus (*Narcissus tazetta*) (Daffodil) with the scientific name (*Narcissus tazetta*) is a perennial bulbous plant from the Amaryllidaceae family (Mozafarian, 1996; Ghahraman & Atar, 2000). Narcissus is one of the most important ornamental bulbous plants that is used as a cut flower and a potted plant. Our country has a huge source of native daffodils. Iran, with its climatic diversity, vast area of fertile land and abundant solar energy, is one of the centers of the propagation of plant species is important. Today, plant genetic resources are considered as the most valuable and vital resources of any country. Ornamental plants such as narcissus have been important for mankind since ancient times. They are valuable for their beauty, but also for their medicinal properties and as a food source (Chehrizi et al., 2008; Farahmand & Khosh-Khui, 2007). Considering the importance of the product in the mentioned cases, preserving the valuable native narcissus plant of our country has many economic and social benefits, also to prevent its extinction. Therefore, this project was carried out to collect and evaluate native daffodil genotypes and introduce superior genotypes.

Materials and Methods

In this research, the bulbs of narcissus native genotypes were collected from natural narcissus fields in different regions of the country (Khuzestan, Mazandaran, Fars, Ilam and Khorasan provinces). Then bulbs were planted in the research field of the Ornamental Plants Research Institute and the morphological and physiological characteristics of the daffodils were evaluated in the field, including the height of the flowering stem, number of leaves, number of flowers, flowering period, chlorophyll and flavonoid content, bulb size, number and fresh and dry weight were measured. Measuring methods are explained below. Flowering branch height: The height of the narcissus flower branch from the point of contact with the soil to the tip of the flower was measured by a ruler in centimeters. Number of leaves: The number of leaves in each narcissus plant was counted. Number of flowers in each branch: The number of flowers in each branch of narcissus was counted. Flowering period: the number of days from the appearance of the first flower to the time the flowers withered was counted. The size of daughter bulbs: The diameter of daughter bulbs in each narcissus plant was measured by calipers in millimeters. Number of daughter bulbs: The number of daughter bulbs in each narcissus plant was counted. Fresh and dry weight of daughter bulbs: The bulbs of each narcissus plant were removed from the soil. After cleaning the onions from the mud, the onions were weighed by an accurate digital scale, which was recorded as fresh weight, in grams. The onions were then placed in the oven for 72 hours and then weighed again by a precision digital balance, which was recorded as dry weight in grams. Amount of chlorophyll and carotenoids was measured by the method of Maxwell & Johnson, 2000 and amount of flavonoids was measured by the method of Chang et al. (2002).



©2024 The author(s). This is an open access article distributed under [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

<https://doi.org/10.22067/jhs.2024.88637.1356>

Results and Discussion

According to the results of this experiment, Mazandaran and Ilam genotypes showed the highest values for morphological indices. By comparing different populations of *Narcissus Shahla*, it was observed that the population of Mazandaran with (16.38 cm) had the highest height of flowering stem, with (11.9) had the highest number of flowers, with (55.34) had the highest number of leaves, with (47.33 days) had the longest flowering period, with (8.53) had the largest number of girl onions, with (48.39 mm) had the largest size of girl onions, with (15.88 g) had the highest fresh weight of girl onions, with (10.68 g) had the highest dry weight of girl onions. Also, Khuzestan and Mazandaran genotypes showed the highest values for physiological indices. It was observed that the population of Khuzestan with (2.229 mg.g⁻¹) had the highest amount of chlorophyll, with (1.594 mg.g⁻¹) had the highest amount of carotenoids and with (1.525 mg.ml⁻¹) had the highest amount of flavonoids.

Conclusions

Comparisons of morphological and physiological characteristics of native Iranian narcissus in the field and post-harvest period in different populations of native narcissus (*Shahla* and *Porpar*) showed that native Iranian narcissus is a plant suitable for planting in green spaces. The planting of these plants in the area of Mahalat has been successful and if cultivated, along with daily care, weeding and regular watering, it is completely suitable for surface production. Planting native narcissus can be recommended for cities with a climate similar to Mahalat. In order to achieve this, we can introduce the native daffodils of Mazandaran and Ilam regions as the best genotypes. Because in terms of morphological indicators, they have the highest stem height, number of flowers, number of leaves. Also, In order to use a flower pot in the home or office environment, the native daffodils of Khuzestan and Mazandaran regions can be introduced as the best genotypes.

Keywords: Bulb, Carotenoid, Flavonoid, *Narcissus* flower, Native genotypes

مقاله پژوهشی

جلد ۳۸، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۳، ص. ۷۷۷-۷۸۹

ارزیابی شاخص‌های ریخت‌شناختی و فیزیولوژیکی نرگس‌های بومی ایران (*Narcissus tazetta*) در اقلیم معتدل

سحر میرزایی^{۱*} - مهرانگیز چهارزی^۲

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۴/۰۳

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۵/۲۳

چکیده

نرگس (*Daffodil*) با نام علمی *Narcissus tazetta*، متعلق به خانواده Amaryllidaceae و گیاهی دائمی و سوخ‌دار می‌باشد که به‌عنوان گل بریدنی و گیاه گلدانی مورد استفاده قرار می‌گیرد. کشور ایران دارای سرمایه عظیمی از نرگس‌های بومی بوده، لذا حفظ و نگهداری از آن جهت جلوگیری از انقراض یکی از وظایف دست‌اندرکاران می‌باشد. بنابراین، این پژوهش با هدف جمع‌آوری و ارزیابی ژنوتیپ‌های بومی نرگس و معرفی ژنوتیپ‌های برتر انجام شد. در این پژوهش، سوخ ژنوتیپ‌های بومی گل نرگس از نرگس‌زارهای طبیعی مناطق مختلف کشور جمع‌آوری گردید. پس از جمع‌آوری سوخ‌ها از عرصه (دو نوع شهلا و پرپر، از پنج منطقه)، اقدام به کشت آن‌ها در سه تکرار در مزرعه پژوهشی پژوهشکده گل و گیاهان زینتی گردید. ارزیابی صفات ریخت‌شناختی و فیزیولوژیکی گل‌های نرگس در مزرعه از جمله ارتفاع شاخه گل‌دهنده، تعداد برگ، تعداد گلچه در هر شاخه، دوره گل‌دهی و میزان کلروفیل و فلاونوئید، اندازه، تعداد و وزن تر و خشک سوخ‌های دختری یادداشت و بررسی شد. طبق نتایج این پژوهش، ژنوتیپ‌های مازندران و ایلام بالاترین مقادیر شاخص‌های ریخت‌شناختی را نشان دادند. با مقایسه جمعیت‌های مختلف گل نرگس شهلا مشاهده شد که جمعیت مازندران دارای بیشترین ارتفاع ساقه گلدار (۱۶/۳۸ سانتی‌متر)، تعداد گل (۱۱/۹)، تعداد برگ (۵۵/۳۴)، دوره گل‌دهی (۴۷/۳۳ روز)، تعداد سوخ دختری (۸/۵۳)، اندازه سوخ دختری (۴۸/۳۹ میلی‌متر)، وزن تر سوخ دختری (۱۵/۸۸ گرم) و وزن خشک سوخ دختری (۱۰/۶۸ گرم) را داشت. همچنین ژنوتیپ‌های خوزستان و مازندران بیشترین مقادیر را برای شاخص‌های فیزیولوژیکی نشان دادند، به‌گونه‌ای که جمعیت خوزستان بیشترین میزان کلروفیل (۲/۲۲۹ میلی‌گرم بر گرم)، کاروتنوئید (۱/۵۹۴ میلی‌گرم در گرم) و فلاونوئیدها (۱/۵۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) را داشتند. بنابراین، می‌توان نرگس بومی مناطق مازندران، ایلام و خوزستان را به‌عنوان برترین ژنوتیپ‌ها معرفی نمود.

واژه‌های کلیدی: ژنوتیپ‌های بومی، سوخ، فلاونوئید، کاروتنوئید، گل نرگس

مقدمه

گل‌های نرگس بومی، ژنوتیپ‌هایی از گونه *Narcissus tazetta* L. هستند. کشور ایران با دارا بودن تنوع اقلیمی، سطح گسترده اراضی حاصلخیز و وجود انرژی سرشار خورشیدی، یکی از مراکز مهم انتشار گونه‌های گیاهی است (Mozafarian, 1996; Ghahraman and Atar, 2000). امروزه منابع ژنتیکی گیاهی به‌عنوان ارزشمندترین و

حیاتی‌ترین ذخائر و منابع هر کشور محسوب می‌شوند. گیاهان سوخ‌دار زینتی مثل گل نرگس از قدیم‌الایام برای بشر حائز اهمیت بوده و نه تنها به‌خاطر زیبایی، بلکه به‌جهت داشتن خواص دارویی و به‌عنوان یک منبع غذایی، ارزشمند می‌باشند (Chehrizi et al., 2008; Farahmand & Khosh-Khui, 2007). اما حفاظت از ژنوتیپ‌های موجود جهت جلوگیری از انقراض آن و شناسایی شاخص‌های موفولوژیکی، فیزیولوژیکی گل نرگس در راستای شناسایی خصوصیات هر ژنوتیپ بسیار حائز اهمیت است. از مزایای این اقدامات می‌توان صادرات بهتر، ارزآوری بیشتر و تحقیقات پژوهش‌های به‌نژادی هدفمندتر را نام برد.

مواردی که نشان از اهمیت پژوهش در مورد گل نرگس بومی ایران دارد عبارتند از: شناسایی و حفاظت از گونه‌های وحشی گل

۱- استادیار، پژوهشکده گل و گیاهان زینتی، مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، محلات، ایران
(*) نویسنده مسئول: Email: sahar_mirzaei81@yahoo.com
۲- دانشیار، بخش باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران، اهواز، ایران
<https://doi.org/10.22067/jhs.2024.88637.1356>

ژنوتیپ‌های مناسب با استانداردهای صادرات و در نتیجه ارزآوری بیشتر برای کشور است. از مزایای اجتماعی آن نیز می‌توان به حفظ ژنوتیپ‌های بومی کشور، شناسایی هر ژنوتیپ به صورت دقیق و همه-جانبه و معرفی ژنوتیپ برتر کشورمان به دنیا را نام برد.

مواد و روش‌ها

سوخ‌های ژنوتیپ‌های بومی گل نرگس از نرگس‌زارهای طبیعی ایران از مناطق مختلف (استان‌های خوزستان، مازندران، فارس، ایلام و خراسان) جمع‌آوری شدند (جدول ۱).

سوخ‌های نرگس در مزرعه پژوهشی پژوهشکده گل و گیاهان زینتی در شهرستان محلات کشت شدند. اقلیم منطقه کاشت در شکل‌های ۱، ۲ و ۳ نشان داده شده است.

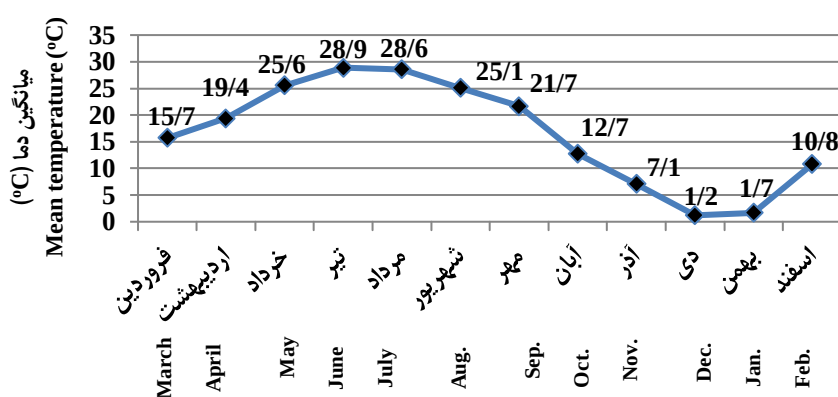
نرگس، سابقه دیرین کشت و کار آن در ایران، جلوگیری از انقراض گونه‌ها و افزایش سطح زیر کشت گل نرگس (۱۴۱۰/۸ هکتار)، ارزش اقتصادی بالا (زینتی، دارویی و عطری)، تولید سالانه بیش از ۳۵۰ میلیون شاخه گل بریده (۳۸۹/۸ میلیون شاخه)، گل‌دهی در فصل پاییز و زمستان، قابلیت کشت در پارک‌ها و باغچه‌ها و ایجاد ارقام جدید گل نرگس (Chehrizi et al., 2012). گزارشات پژوهشگران نشان دادند که زمان کاشت گیاهان سوخ‌دار بر روی شاخص‌های متعدد از جمله ارتفاع گیاه و تعداد سوخ‌های دختری تاثیر دارد (Gul and Tahir, 2012; Kizil et al., 2008).

بنابراین، با توجه به اهمیت محصول در موارد ذکر شده حفظ گیاه نرگس بومی ارزشمند کشورمان دارای مزایای اقتصادی و اجتماعی فراوانی می‌باشد. از مزایای اقتصادی آن می‌توان به شناسایی بهتر ژنوتیپ‌ها و توصیه به کشاورزان جهت کشت ژنوتیپ‌های با شاخص بازارپسندی بهتر جهت فروش بیشتر با قیمت بهتر و نیز کشت بیشتر

جدول ۱- طول و عرض جغرافیایی محل جمع‌آوری سوخ‌های ژنوتیپ‌های بومی گل نرگس در سال ۱۴۰۱

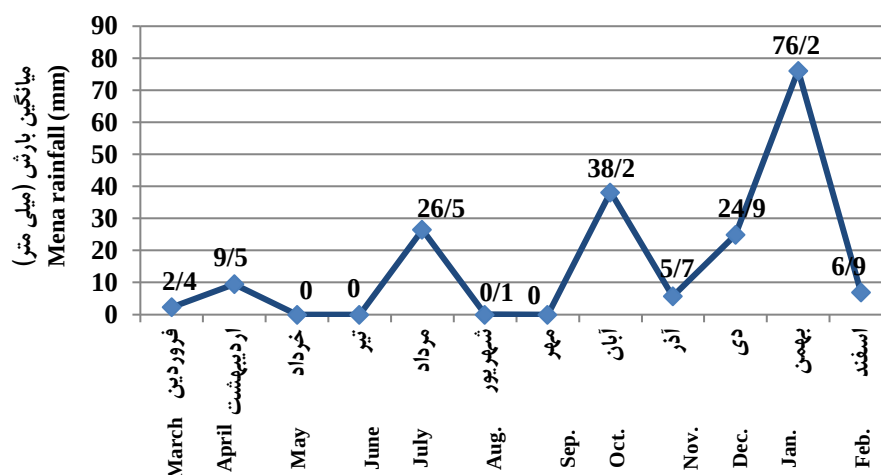
Table 1- Altitude and latitude of collecting narcissus bulbs in 2022

محل جمع‌آوری Place of collection	طول و عرض جغرافیایی Altitude and latitude
خوزستان (بهبهان) Khuzestan (Behbahan)	(30°59' - 50°24')
مازندران (بهبهر) Mazandaran (Behshahr)	(36°69' - 53°53')
فارس (کازرون) Fars (Kazeroon)	(29°61' - 51°64')
ایلام (دره‌شهر) Ilam (Dareshahr)	(33°15' - 47°38')
خراسان (بیرجند) Khorasan (Birjand)	(32°87' - 59°21')

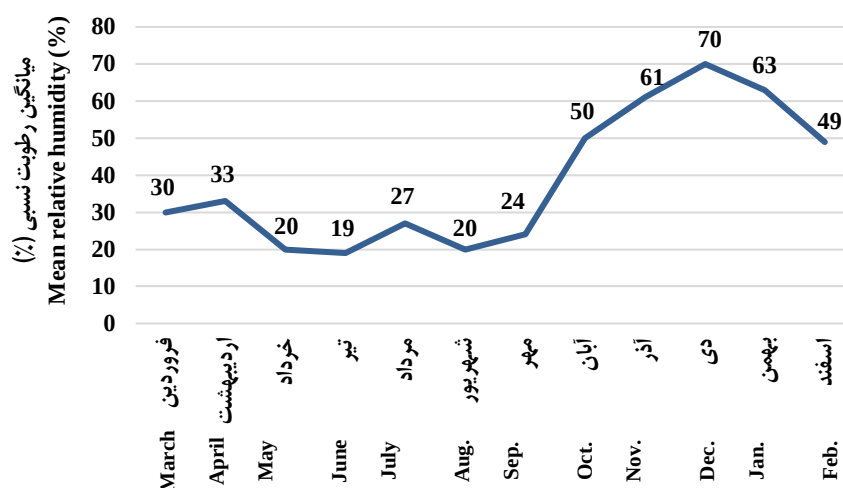


شکل ۱- میانگین دمای شهرستان محلات در طول دوره رشد گیاه نرگس در سال ۱۴۰۱

Figure 1- Mean temperature in Mahallat during narcissus growth period in 2022-2023



شکل ۲- میانگین بارش شهرستان محلات در طول دوره رشد گیاه در سال ۱۴۰۱
Figure 2- Mean rainfall in Mahallat during narcissus growth period in 2022-2023



شکل ۳- میانگین رطوبت نسبی شهرستان محلات در طول دوره رشد گیاه در سال ۱۴۰۱
Figure 3- Mean relative humidity in Mahallat during narcissus growth period in 2022-2023

دوره گل‌دهی: تعداد روزها از زمان ظهور اولین گلچه تا زمان پژمردگی گل‌ها شمارش شد.

اندازه سوخ‌های دختر: قطر سوخ‌های دختر در هر بوته گل نرگس توسط کولیس، بر حسب میلی‌متر، اندازه‌گیری شد.

تعداد سوخ‌های دختر: تعداد سوخ‌های دختر در هر بوته گل نرگس شمارش شد.

وزن تر و خشک سوخ‌های دختر: سوخ‌های هر بوته گل نرگس از خاک خارج شدند. پس از تمیز کردن سوخ‌ها از گل و لای، سوخ‌ها توسط ترازوی دیجیتال دقیق وزن شدند که به‌عنوان وزن تر، بر حسب گرم، ثبت شد. سپس سوخ‌ها به‌مدت ۷۲ ساعت در آون قرار

سپس ارزیابی صفات ریخت‌شناختی و فیزیولوژیکی در مزرعه از جمله ارتفاع شاخه گل‌دهنده، تعداد برگ، تعداد گلچه در هر شاخه، دوره گل‌دهی، میزان کلروفیل، فلاونوئید و همچنین اندازه، تعداد و وزن تر و خشک سوخ‌های دختر ارزیابی شد.
ارتفاع شاخه گل‌دهنده: ارتفاع شاخه گل نرگس از محل تماس با خاک تا نوک گل توسط خط‌کش، بر حسب سانتیمتر، اندازه‌گیری گردید.

تعداد برگ: تعداد برگ‌ها در هر بوته گل نرگس شمارش شد.
تعداد گلچه در هر شاخه: تعداد گلچه در هر شاخه گل نرگس شمارش شد.

داده شدند و سپس مجدد توسط ترازوی دیجیتال دقیق وزن شدند که به عنوان وزن خشک، بر حسب گرم، ثبت شد.

میزان کلروفیل و کاروتنوئید

در دوره گل دهی نرگس از دی تا بهمن ماه (جدول ۳)، یک گرم نمونه گیاهی از برگ (قسمت وسطی برگ های میانی)، جدا و در یک هاون تمیز له شد، ۲۰ میلی لیتر استون ۸۰ درصد به آن اضافه کرده و به له کردن نمونه گیاهی ادامه داده شد تا جایی که یک بافت نرم و یکدست حاصل شود. در این مرحله به مدت پنج دقیقه در سانتیفریوژ (۵۰۰ دور در دقیقه) گذاشته و سپس به ارلن مدرج با حجم ۱۰۰ میلی لیتر منتقل شد. این پروسه آنقدر ادامه داده شد تا باقیمانده نمونه گیاهی موجود در استون بی رنگ شد. حجم محلول درون ارلن را با اضافه کردن استون ۸۰ درصد به ۱۰۰ میلی لیتر رسانده. میزان جذب محلول در ۶۴۵، ۶۶۳ و ۶۵۲ نانومتر اندازه گیری و در نهایت، میزان کلروفیل (میلی گرم کلروفیل در هر گرم بافت گیاهی) توسط فورمول زیر محاسبه گردید. کاروتنوئید نیز با همین روش در طول موج ۳۲۰ نانومتر اندازه گیری و محاسبه شد (Maxwell and Johnson, 2000).

$$\text{mg total Chlorophyll (per g tissue)} \\ = 20.2 (A645)$$

$$+ 8.02 (A663) \times \frac{V}{1000 \times W}$$

که در آن، A: جذب در طول موج خاص، V: حجم نهایی کلروفیل استخراج شده در استون ۸۰ درصد و W: وزن تر بافت جدا شده می باشد.

$$\text{Carotenoides (mg / g tissue) = } \\ 100 (A470) - 3.27 (\text{mg chl. a}) - 104 (\text{mg chl. b}) / 227$$

که در آن، A: جذب در طول موج خاص، V: حجم نهایی کلروفیل استخراج شده و W: وزن تر بافت جدا شده می باشد.

میزان فلاونوئید

برای سنجش میزان فلاونوئید از روش رنگ سنجی کلرید آلومینیوم استفاده شد. در ابتدا گل ها در محیط آزمایشگاه در دمای طبیعی خشک و آسیاب شد. سپس مقدار پنج گرم از نمونه های پودر شده در ارلن ۵۰ میلی لیتری ریخته و ۵۰ میلی لیتر متانول ۸۰ درصد به آن اضافه گردید. پس از ۲۴ ساعت با استفاده از کاغذ صافی، محلول متانولی حاوی نمونه صاف شده و جهت حذف متانول، عصاره محلول متانولی به دستگاه روتاری انتقال داده شد. پس از تبخیر متانول در دستگاه، عصاره خالص در ظرف کوچکی ریخته شده و برای اندازه گیری فلاونوئید استفاده گردید. در این روش ابتدا ۰/۱ میلی لیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد در لوله آزمایش ریخته شده. سپس ۰/۱ میلی لیتر استات پتاسیم یک مولار به لوله ها اضافه و با آن

مخلوط گردید و سپس ۲/۸ میلی لیتر آب مقطر به لوله ها اضافه شد. در مرحله آخر ۰/۵ میلی لیتر از محلول عصاره به مخلوط اضافه شده. نمونه ها به مدت ۳۰ دقیقه در محیط تاریک قرار گرفته و در نهایت، جذب نمونه ها در طول موج ۴۱۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر تعیین گردید. مقدار فلاونوئید کل برای هر کدام از عصاره ها در سه تکرار به صورت معادل میلی گرم کوئرستین بر گرم وزن تر محاسبه شد (Chang et al., 2002).

روش آماری

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی در سه تکرار، طی سال های ۱۴۰۳-۱۴۰۱ انجام شد. داده های ثبت شده پس از تکمیل ارزیابی ها در نرم افزار اکسل وارد شد و از طریق نرم افزار SPSS 26 تجزیه و تحلیل گردید. مقایسه میانگین داده ها نیز با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن و در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد صورت گرفت. در نهایت، با توجه به نتایج حاصل از ارزیابی های فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی، برترین ژنوتیپ های نرگس بومی ایران معرفی شد.

نتایج و بحث

سوخ ژنوتیپ های بومی گل نرگس بومی از دو نوع شهلا و پرپر، از نرگس زارهای طبیعی ایران از پنج منطقه مختلف (استان های خوزستان، مازندران، فارس، ایلام و خراسان رضوی) در سال ۱۴۰۱ جمع آوری شدند (جدول ۱). از هر منطقه، تعداد ۳۰۰ سوخ نرگس با فاصله ۲۰ سانتیمتر، در کرت هایی به ابعاد ۲×۲ متر و در مساحت ۶۰ متر مربع، در سه تکرار، کاشته شدند (شکل ۴). شهرستان محلات در ارتفاع ۱۷۱۴ متری از سطح دریا و عرض جغرافیایی ۳۳°۹۰' شمالی و طول جغرافیایی ۵۰°۴۵' شرقی قرار دارد. آنالیز خاک مزرعه پژوهشی نیز در جدول ۲ ارائه شده است.

خصوصیات ریخت شناسختی نرگس بومی در مزرعه تحقیقاتی

سپس ارزیابی صفات ریخت شناسختی و فیزیولوژیکی گیاهان (ارتفاع شاخه گل دهنده، تعداد برگ، تعداد گلچه در هر شاخه، دوره گل دهی، میزان کلروفیل، فلاونوئید و همچنین سایز، تعداد و وزن تر و خشک سوخ های دختری) نیز در مزرعه پژوهشی پژوهشکده گل و گیاهان زینتی محلات، ارزیابی و ثبت شد. شاخص های ریخت شناسختی در دوره گل دهی و در اوج شکوفایی گل ها اندازه گیری شده است (جدول ۴ و ۵، شکل ۴، ۵ و ۶). همچنین خصوصیات فنولوژیکی نرگس ثبت گردید (جدول ۳).

جدول ۲- آنالیز خاک پژوهشگاه گل و گیاهان زینتی محلات

Table 2- Analysis of soil in the Ornamental Plants Research Center located in Mahalat

نمونه خاک Soil sample	عمق Depth (cm)	بافت Texture	EC (dS.m ⁻¹)	pH	TNV (%)	Organic carbon (%)	N (%)	P (ppm)	K (ppm)	Zn (ppm)	Mn (ppm)	Fe (ppm)	Cu (ppm)
محلات Mahallat	0-30	شنی لومی Sandy loam	0.78	7.9	33	0.4	0.041	10.32	170	1.1	5.86	4	0.9

جدول ۳- خصوصیات فنولوژیکی نرگس بومی در شهرستان محلات

Table 3- Phenological indices of endemic Narcissus in Mahallat

فنولوژی نرگس بومی Phenology of endemic narcissus	رشد اولیه گیاه First stage of growth	ظهور ساقه گل‌دهنده Appearing flowering stem	شروع شکوفایی گل Start of flowering stage	شکوفایی کامل گل End of flowering stage	دوره گل‌دهی Flowering period
نرگس شهلا (Shahla Narcissus) 1401- 1402 2022-2023 میانگین دمای روزانه (°C) Mean daily temperature (°C)	۳ آذر / 24 th Nov.	۲۰ آذر / 11 th Dec.	۵ دی / 26 th Dec.	۱۵ دی / 5 th Jan.	۱۰ بهمن / 30 th Jan.
نرگس پرپر (Porpar Narcissus) 1401-1402 2022-2023 میانگین دمای روزانه (°C) Mean daily temperature (°C)	۱۰ آذر / 1 th Dec.	۲۵ آذر / 16 th Dec.	۱۲ دی / 2 th Jan.	۲۱ دی / 11 th Jan.	۱۵ بهمن / 4 th Feb.

ارتفاع ساقه گل‌دهنده

با مقایسه جمعیت‌های مختلف نرگس شهلا مشاهده شد جمعیت مازندران با (۳۸/۱۶ سانتیمتر) دارای بیشترین ارتفاع ساقه گل‌دهنده بوده است. پس از آن جمعیت ایلام با (۳۶/۹۴ سانتیمتر) بیشترین ارتفاع ساقه را دارا بود. کمترین ارتفاع ساقه گل‌دهنده نرگس نیز در جمعیت خراسان با (۳۱/۴۴ سانتیمتر) مشاهده شد. همچنین با مقایسه جمعیت‌های مختلف نرگس پرپر مشاهده شد جمعیت مازندران (۲۸/۸۳ سانتیمتر) دارای بیشترین ارتفاع ساقه گل‌دهنده بوده است. پس از آن جمعیت ایلام با (۲۶/۶۶ سانتیمتر) بیشترین ارتفاع ساقه را دارا بود. کمترین ارتفاع ساقه گل‌دهنده نرگس نیز در جمعیت خراسان با (۲۱/۷۷ سانتیمتر) مشاهده شد (جدول ۵). طبق گزارشات سایر پژوهشگران ارتفاع ساقه نرگس در *Narcissus tazetta* ۱۳/۸۱ و ۲۳/۳۹ سانتیمتر و در *Narcissus pseudonarcissus* ارتفاع ۳۵/۷ سانتیمتر ثبت شده است که اندازه آن از ارتفاع نرگس بومی ایران بسیار کمتر می‌باشد (Babarabie et al., 2018; El-Naggar, 2010; Miller and Olberg, 2016). ارتفاع ساقه گل‌دهنده در نرگس شهلا به‌طور معنی‌داری ($p \leq 0.001$) از نرگس پرپر بیشتر بود. همچنین در مناطق مختلف جمع‌آوری نیز، تفاوت معنی‌داری ($p \leq 0.001$) در میزان ارتفاع ساقه نرگس مشاهده شد (جدول ۴).

تعداد گل

با مقایسه جمعیت‌های مختلف نرگس شهلا مشاهده شد جمعیت

مازندران با (۹/۱۱) دارای بیشترین تعداد گل بوده است. پس از آن جمعیت ایلام با (۸/۴۴) بیشترین تعداد گل را دارا بود. کمترین تعداد گل نرگس نیز در جمعیت خراسان با (۵/۸۸) مشاهده شد. همچنین با مقایسه جمعیت‌های مختلف نرگس پرپر مشاهده شد جمعیت مازندران با (۷/۷۸) دارای بیشترین تعداد گل بوده است. پس از آن جمعیت ایلام با (۶/۴۴) بیشترین تعداد گل را دارا بود. کمترین تعداد گل نرگس نیز در جمعیت خراسان با (۳/۸۹) مشاهده شد (جدول ۵). ال-نرگس در سال ۲۰۱۰، تعداد ۵/۸۸ گل را در هر بوته گل نرگس ثبت کرد (El-Naggar, 2010). در سایر گزارشات نیز تعداد ۳/۴۷ و ۵/۹۸ گل برای هر بوته گل نرگس ثبت شده است (Dhiman et al., 2019). تعداد گل در نرگس شهلا به‌طور معنی‌داری ($p \leq 0.001$) از نرگس پرپر بیشتر بود. همچنین در مناطق مختلف جمع‌آوری نیز، تفاوت معنی‌داری ($p \leq 0.001$) در تعداد گل نرگس مشاهده شد (جدول ۴).

تعداد برگ

با مقایسه جمعیت‌های مختلف نرگس شهلا مشاهده شد جمعیت مازندران با (۳۴/۵۵) دارای بیشترین تعداد برگ بوده است. پس از آن جمعیت ایلام با (۲۸/۴۴) بیشترین تعداد برگ را دارا بود. کمترین تعداد برگ نیز در جمعیت خراسان با (۲۴/۰) مشاهده شد. همچنین با مقایسه جمعیت‌های مختلف نرگس پرپر مشاهده شد جمعیت مازندران با (۲۴/۳۳) دارای بیشترین تعداد برگ بوده است. پس از آن جمعیت ایلام با (۲۰/۲۲) بیشترین تعداد برگ را دارا بود. کمترین تعداد برگ

داری ($p \leq 0.001$) در تعداد سوخ‌های دختری نرگس مشاهده شد (جدول ۴).

اندازه سوخ‌های دختری

با مقایسه جمعیت‌های مختلف نرگس شهلا مشاهده شد جمعیت مازندران با (۴۸/۳۹ میلی‌متر) دارای بزرگ‌ترین اندازه سوخ‌های دختری بوده است. پس از آن جمعیت ایلام با (۴۵/۲۹ میلی‌متر) بزرگ‌ترین اندازه سوخ‌های دختری را دارا بود. کوچک‌ترین ارتفاع اندازه سوخ‌های دختری نیز در جمعیت خراسان با (۴۰/۶۱ میلی‌متر) مشاهده شد. همچنین با مقایسه جمعیت‌های مختلف نرگس پرپر مشاهده شد جمعیت مازندران با (۳۰/۲۱ میلی‌متر) دارای بزرگ‌ترین اندازه سوخ‌های دختری بوده است. پس از آن جمعیت ایلام با (۲۵/۱۹ میلی‌متر) بزرگ‌ترین اندازه سوخ‌های دختری نیز در جمعیت خراسان با (۱۷/۲۵ میلی‌متر) مشاهده شد (جدول ۵). دهیما و همکاران در سال ۲۰۱۹ اندازه ۲/۵۸ تا ۴/۲۲ میلی‌متر گزارش داد (Dhiman et al., 2019). در مطالعه دیگری نیز سلزاک و همکاران در سال ۲۰۲۰، سایز ۱۰/۶ تا ۲۱/۷ میلی‌متر را ثبت نمود (Slezák et al., 2020). اندازه سوخ‌های دختری در نرگس شهلا به‌طور معنی‌داری ($p \leq 0.001$) از نرگس پرپر بیشتر بود. همچنین در مناطق مختلف جمع‌آوری نیز، تفاوت معنی‌داری ($p \leq 0.001$) در اندازه سوخ‌های دختری نرگس مشاهده شد (جدول ۴).

وزن تر سوخ‌های دختری

با مقایسه جمعیت‌های مختلف نرگس شهلا مشاهده شد جمعیت مازندران با (۱۵/۸۸ گرم) دارای بیشترین وزن تر سوخ‌های دختری بوده است. پس از آن جمعیت ایلام با (۱۳/۶۹ گرم) بیشترین وزن تر سوخ‌های دختری را دارا بود. کمترین وزن تر سوخ‌های دختری نیز در جمعیت خراسان با (۹/۲۷ گرم) مشاهده شد. همچنین با مقایسه جمعیت‌های مختلف نرگس پرپر مشاهده شد جمعیت مازندران با (۹/۰۲ گرم) دارای بیشترین وزن تر سوخ‌های دختری بوده است. پس از آن جمعیت ایلام با (۸/۸۹ گرم) بیشترین وزن تر سوخ‌های دختری را دارا بود. کمترین وزن تر سوخ‌های دختری نیز در جمعیت خراسان با (۴/۳۹ گرم) مشاهده شد (جدول ۵). سلزاک و همکاران در سال ۲۰۲۰ وزن ۰/۸ تا ۶/۳ گرم را برای وزن سوخ نرگس *Narcissus Poeticus* گزارش داد (Slezák et al., 2020). خان و همکاران نیز در سال ۲۰۱۳، وزن ۳۷/۳۷ گرم را ثبت کرد (Khan et al., 2013). وزن تر سوخ‌های دختری در نرگس شهلا به‌طور معنی‌داری ($p \leq 0.001$) از نرگس پرپر بیشتر بود. همچنین در مناطق مختلف جمع‌آوری نیز، تفاوت معنی‌داری ($p \leq 0.005$) در وزن تر سوخ‌های دختری نرگس مشاهده شد (جدول ۴).

نیز در جمعیت خراسان با (۱۳/۱۱) مشاهده شد (جدول ۵). باباریع و همکاران در سال ۲۰۱۸ و خان و همکاران در سال ۲۰۱۳، تعداد ۲/۵۶ و ۳/۹۸ برگ را در هر بوته گزارش دادند (Babarabie et al., 2018; Khan et al., 2013). تعداد برگ در نرگس شهلا به‌طور معنی‌داری ($p \leq 0.001$) از نرگس پرپر بیشتر بود. همچنین در مناطق مختلف جمع‌آوری نیز، تفاوت معنی‌داری ($p \leq 0.001$) در تعداد برگ نرگس مشاهده شد (جدول ۴).

دوره گل‌دهی

با مقایسه جمعیت‌های مختلف نرگس شهلا مشاهده شد جمعیت مازندران با (۴۷/۳۳ روز) دارای بیشترین دوره گل‌دهی بوده است. پس از آن جمعیت ایلام با (۴۳/۳۳ روز) بیشترین دوره گل‌دهی را دارا بود. کمترین دوره گل‌دهی نرگس نیز در جمعیت خراسان با (۳۹/۶۷ روز) مشاهده شد. همچنین با مقایسه جمعیت‌های مختلف نرگس پرپر مشاهده شد جمعیت مازندران با (۳۷/۰ روز) دارای بیشترین دوره گل‌دهی بوده است. پس از آن جمعیت ایلام با (۳۴/۰ روز) بیشترین دوره گل‌دهی را دارا بود. کمترین دوره گل‌دهی نرگس نیز در جمعیت خراسان با (۲۸/۰ روز) مشاهده شد (جدول ۵). شروع گل‌دهی در نرگس تحت تاثیر دمای محیط است. پورتات و همکاران نیز شروع گل‌دهی نرگس را در بهار با دمای محیط ۱۳-۲۰ درجه سانتیگراد گزارش کرده‌اند (Noy-Porat et al., 2009). بهترین دما نیز برای توسعه گل‌دهی ۱۵-۲۰ درجه سانتیگراد می‌باشد (Bock et al., 2015). دوره گل‌دهی در نرگس شهلا به‌طور معنی‌داری ($p \leq 0.001$) از نرگس پرپر بیشتر بود. همچنین در مناطق مختلف جمع‌آوری نیز، تفاوت معنی‌داری ($p \leq 0.001$) در دوره گل‌دهی نرگس مشاهده شد (جدول ۴).

تعداد سوخ‌های دختری

با مقایسه جمعیت‌های مختلف نرگس شهلا مشاهده شد جمعیت مازندران با (۸/۵۳) دارای بیشترین تعداد سوخ‌های دختری بوده است. پس از آن جمعیت ایلام با (۶/۳۳) بیشترین تعداد سوخ‌های دختری را دارا بود. کمترین تعداد سوخ‌های دختری نیز در جمعیت خراسان با (۳/۴۴) مشاهده شد. همچنین با مقایسه جمعیت‌های مختلف نرگس پرپر مشاهده شد جمعیت مازندران با (۵/۶۶) دارای بیشترین تعداد سوخ‌های دختری بوده است. پس از آن جمعیت ایلام با (۴/۷۷) بیشترین تعداد سوخ‌های دختری را دارا بود. کمترین تعداد سوخ‌های دختری نیز در جمعیت خراسان با (۲/۱۱) مشاهده شد (جدول ۵). طبق گزارشات ارائه شده تعداد سوخ‌های دختری نرگس به‌طور میانگین ۴/۷۳ عدد ثبت شده است (Ge et al., 2005). تعداد سوخ‌های دختری در نرگس شهلا به‌طور معنی‌داری ($p \leq 0.001$) از نرگس پرپر بیشتر بود. همچنین در مناطق مختلف جمع‌آوری نیز، تفاوت معنی-

وزن خشک سوخ‌های دختری

با مقایسه جمعیت‌های مختلف نرگس شهلا مشاهده شد جمعیت مازندران با (۱۰/۶۸ گرم) دارای بیشترین وزن خشک سوخ‌های دختری بوده است. پس از آن جمعیت ایلام با (۸/۵۴ گرم) بیشترین وزن خشک سوخ‌های دختری را دارا بود. کمترین وزن خشک سوخ‌های دختری نیز در جمعیت خراسان با (۶/۶۷ گرم) مشاهده شد. همچنین با مقایسه جمعیت‌های مختلف نرگس پرپر مشاهده شد جمعیت مازندران با (۵/۷۲ گرم) دارای بیشترین وزن خشک سوخ‌های دختری بوده است. پس از آن جمعیت ایلام با (۴/۶۸ گرم) بیشترین وزن خشک سوخ‌های دختری را دارا بود. کمترین وزن خشک سوخ‌های دختری نیز در جمعیت خراسان با (۱/۶۶ گرم) مشاهده شد (جدول ۵). طبق نتایج محققان، وزن سوخ رابطه مستقیم با رشد گیاه دارد (Xia et al., 2004). همچنین، گیاهانی که از سوخ‌های بزرگ‌تر به‌وجود می‌آیند، در مقایسه با گیاهان حاصل از سوخ‌های با اندازه متوسط، سریع‌تر دوره رشد خود را تکمیل می‌کنند (Addai and Scott, 2011). در پژوهش دیگر وزن تر ۲۹ گرم و وزن خشک را ۲۳ گرم ارائه نموده‌اند (Gul et al., 2015). وزن خشک سوخ‌های دختری در نرگس شهلا به‌طور معنی‌داری ($p \leq 0/001$) از نرگس پرپر بیشتر بود. همچنین در مناطق مختلف جمع‌آوری نیز، تفاوت معنی‌داری ($p \leq 0/001$) در وزن خشک سوخ‌های دختری نرگس مشاهده شد (جدول ۴).

میزان کاروتنوئید

با مقایسه جمعیت‌های مختلف نرگس شهلا مشاهده شد جمعیت خوزستان با (۱/۵۹۴ میلی گرم بر گرم) دارای بیشترین میزان کاروتنوئید بوده است. پس از آن جمعیت مازندران با (۱/۴۵۳ میلی گرم بر گرم) بیشترین میزان کاروتنوئید را دارا بود. کمترین میزان کاروتنوئید نیز در جمعیت خراسان با (۱/۰۴۰ میلی گرم بر گرم) مشاهده شد. همچنین با مقایسه جمعیت‌های مختلف نرگس پرپر مشاهده شد جمعیت مازندران با (۰/۷۱۷ میلی گرم بر گرم) دارای بیشترین میزان کاروتنوئید بوده است. پس از آن جمعیت خوزستان با (۰/۵۸۵ میلی گرم بر گرم) بیشترین میزان کاروتنوئید را دارا بود. کمترین میزان کاروتنوئید نرگس نیز در جمعیت خراسان با (۰/۱۳۳ میلی گرم بر گرم) مشاهده شد (جدول ۵). رنگ گل توسط ساخت و تجمع متابولیت‌های ثانویه مانند کاروتنوئید و فلاونوئید مشخص می‌شود (Tanaka et al., 2008). لی و همکاران میزان کاروتنوئید را در نرگس صفر الی ۰/۹۵ میلی گرم بر گرم گزارش کردند (Li et al., 2015) که میزان آن کمتر از نرگس بومی ایران است. میزان کاروتنوئید در نرگس شهلا به‌طور معنی‌داری ($p \leq 0/001$) از نرگس پرپر بیشتر بود. همچنین در مناطق مختلف جمع‌آوری نیز، تفاوت معنی‌داری ($p \leq 0/001$) در میزان کاروتنوئید نرگس مشاهده شد (جدول ۴).

میزان فلاونوئید

با مقایسه جمعیت‌های مختلف نرگس شهلا مشاهده شد جمعیت خوزستان با (۱/۵۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر) دارای بیشترین میزان فلاونوئید بوده است. پس از آن جمعیت مازندران با (۱/۴۴۴ میلی گرم بر میلی لیتر) بیشترین میزان فلاونوئید را دارا بود. کمترین میزان فلاونوئید نیز در جمعیت خراسان با (۱/۰۹۳ میلی گرم بر میلی لیتر) مشاهده شد. همچنین با مقایسه جمعیت‌های مختلف نرگس پرپر مشاهده شد جمعیت مازندران با (۰/۹۰۴ میلی گرم بر میلی لیتر) دارای بیشترین میزان فلاونوئید بوده است. پس از آن جمعیت خوزستان با (۰/۷۳۹ میلی گرم بر میلی لیتر) بیشترین میزان فلاونوئید را دارا بود. کمترین میزان فلاونوئید نرگس نیز در جمعیت خراسان با (۰/۳۸۷ میلی گرم بر میلی لیتر) مشاهده شد (جدول ۵). لی و همکاران میزان فلاونوئید را در نرگس صفر الی ۰/۷۶ میلی گرم بر گرم گزارش کردند (Li et al., 2015). که میزان آن کمتر از نرگس بومی ایران است. میزان فلاونوئید در نرگس شهلا به‌طور معنی‌داری ($p \leq 0/001$) از نرگس پرپر بیشتر بود. همچنین در مناطق مختلف جمع‌آوری نیز، تفاوت معنی‌داری ($p \leq 0/05$) در میزان فلاونوئید نرگس مشاهده شد (جدول ۴).

میزان کلروفیل

با مقایسه جمعیت‌های مختلف نرگس شهلا مشاهده شد جمعیت خوزستان با (۲/۲۲۹ میلی گرم بر گرم) دارای بیشترین میزان کلروفیل بوده است. پس از آن جمعیت مازندران با (۱/۹۶۶ میلی گرم بر گرم) بیشترین میزان کلروفیل را دارا بود. کمترین میزان کلروفیل نیز در جمعیت خراسان با (۱/۶۰۵ میلی گرم بر گرم) مشاهده شد. همچنین با مقایسه جمعیت‌های مختلف نرگس پرپر مشاهده شد جمعیت مازندران با (۱/۳۱۶ میلی گرم بر گرم) دارای بیشترین میزان کلروفیل بوده است. پس از آن جمعیت خوزستان با (۰/۹۶۵ میلی گرم بر گرم) بیشترین میزان کلروفیل را دارا بود. کمترین میزان کلروفیل نرگس نیز در جمعیت خراسان با (۰/۵۸۰ میلی گرم بر گرم) مشاهده شد (جدول ۵). طبق گزارشات ارائه شده، میزان کلروفیل نرگس (۰/۰۱ میلی گرم بر گرم گزارش شده است (Babarabie et al., 2018)، که در مقایسه با نرگس بومی بسیار کمتر است. میزان کلروفیل در نرگس شهلا به‌طور معنی‌داری ($p \leq 0/001$) از نرگس پرپر بیشتر بود. همچنین در مناطق مختلف جمع‌آوری نیز، تفاوت معنی‌داری ($p \leq 0/01$) در میزان کلروفیل نرگس مشاهده شد (جدول ۴).

جدول ۴- تجزیه واریانس شاخص‌های ریخت‌شناختی و فیزیولوژیکی در جمعیت‌های مختلف نرگس بومی

Table 4- ANOVA for the morphological and physiological indices in different populations of endemic narcissus

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	ارتفاع ساقه Stem length	تعداد گل Flower No.	تعداد برگ Leaf No.	دوره گل‌دهی Flowering duration	تعداد سوخ دختری Bulblet No.	اندازه سوخ دختری Bulblet size
ژنوتیپ Genotype (G)	1	689.665***	20.833***	726.881***	821.633***	15.066***	3177.14***
منطقه Region (R)	4	46.157***	12.753***	100.392***	66.050***	16.501***	89.94***
G×R	4	0.366 ^{ns}	0.204 ^{ns}	2.294 ^{ns}	1.050 ^{ns}	1.259 ^{ns}	10.61 ^{ns}
خطا Error	18	2.221	0.328	12.158	3.267	0.361	12.13
کل Total	29						

^{ns}: عدم تفاوت معنی‌دار، * و ** و ***: به ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال ۵، ۱ و ۰/۰۱ درصد.
^{ns}, **, * and *: non-significant, and significant at $p \leq 0.001$, $p \leq 0.01$ and $p \leq 0.05$, respectively

ادامه جدول ۴- تجزیه واریانس شاخص‌های ریخت‌شناختی و فیزیولوژیکی در جمعیت‌های مختلف نرگس بومی

Table 4 Continued- ANOVA for the morphological and physiological indices in different populations of endemic narcissus

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	وزن تر سوخ دختری Bulblet wet weight	وزن خشک سوخ دختری Bulblet dry weight	کلروفیل Chlorophyll	کاروتنوئید Carotenoid	فلاونوئید Flavonoid
ژنوتیپ Genotype (G)	1	191.016***	145.024***	7.911***	5.397***	3.953***
منطقه Region (R)	4	30.057*	15.957***	0.376**	0.306***	0.197*
G×R	4	1.650 ^{ns}	1.045 ^{ns}	0.077 ^{ns}	0.019*	0.018 ^{ns}
خطا Error	18	10.233	1.279	0.069	0.005	0.061
کل Total	29					

^{ns}: عدم تفاوت معنی‌دار، * و ** و ***: به ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال ۵، ۱ و ۰/۰۱ درصد.
^{ns}, **, * and *: non-significant, and significant at $P \leq 0.001$, $P \leq 0.01$ and $P \leq 0.05$, respectively

جدول ۵- شاخص‌های ریخت‌شناختی و فیزیولوژیکی در جمعیت‌های مختلف نرگس بومی

Table 5- The morphological and physiological indices in different populations of endemic Narcissus

منطقه Region	ارتفاع ساقه Stem length (cm)	تعداد گل Flower No.	تعداد برگ Leaf No.	دوره گل‌دهی Flowering duration (day)	تعداد سوخ Bulblet No.	اندازه سوخ Bulblet size (mm)	وزن تر سوخ Bulblet wet weight (g)	وزن خشک سوخ Bulblet dry weight (g)	کلروفیل Chlorophyll (mg.g ⁻¹ fw)	کاروتنوئید Carotenoid (mg.g ⁻¹ fw)	فلاونوئید Flavonoid (mg.g ⁻¹ fw)
1	29.63 bc*	6.55 b	23.10 bc	36.66 bc	4.66 bc	32.79 bc	9.62 ab	5.57 bc	1.15 bc	0.69 c	0.86 ab
2	28.08 cd	5.38 c	20.94 bc	34.83 c	3.77 cd	32.07 bc	8.38 ab	4.56 c	1.59 ab	1.08 a	1.13 ab
3	33.49 a	8.44 a	29.44 a	42.16 a	7.09 a	39.30 a	12.45a	8.19 a	1.64 a	1.08 a	1.17 a
4	31.80 ab	7.44 b	24.32 ab	38.66 b	5.55 b	35.24 ab	11.28 ab	6.61 ab	1.29 abc	0.85 b	0.98 ab
5	26.60 d	4.88 c	18.55 c	33.83 c	2.77 d	28.93 c	6.83 b	4.16 c	1.09 c	0.58 c	0.74 b

* در هر ستون میانگین‌ها با حروف یکسان در سطح احتمال پنج درصد با آزمون چنددامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری ندارند.

* In each column numbers with same words doesn't have significant difference at 5% of probability level using Duncan's multiple range test

منطقه: ۱ (فارس)، ۲ (خوزستان)، ۳ (مازندران)، ۴ (ایلام)، ۵ (خراسان).

1: Fars, 2: Khuzestan, 3: Mazandaran, 4: Ilam, 5: Khorasan



شکل ۴- مزرعه پژوهشی نرگس
Figure 4- Narcissus research field



شکل ۵- سمت راست تصویر نرگس شهلا و سمت چپ تصویر نرگس پرپر
Figure 5- Shahla narcissus at right and Porpar Narcissus at left



شکل ۶- سوخ‌های دختری گل‌های نرگس
Figure 6- Daughter bulbs of Narcissus flower

نتیجه گیری

مقایسه خصوصیات ریخت‌شناختی و فیزیولوژیکی نرگس بومی ایران در مزرعه و دوره پس از برداشت در جمعیت‌های مختلف نرگس بومی (شپه‌لا و پرپر) نشان داد که نرگس بومی ایران کاملاً گیاهی مناسب برای کاشت در فضای سبز است. کاشت این گیاهان در منطقه محلات موفقیت‌آمیز بوده و در صورت کشت، همراه با مراقبت‌های روزانه، وجین علف‌های هرز و آبیاری منظم، برای تولید در سطح

وسیع کاملاً مناسب است. براساس نتایج این پژوهش، کاشت نرگس بومی را می‌توان برای شهرهای دارای اقلیم مشابه با شهرستان محلات توصیه نمود. همچنین به‌منظور استفاده گلدانی در محیط خانگی یا اداری و نیز با هدف صادرات، می‌توان نرگس بومی مناطق مازندران و ایلام را به‌عنوان برترین ژنوتیپ‌ها معرفی نمود، زیرا از لحاظ شاخص‌های ریخت‌شناختی دارای بالاترین میزان ارتفاع ساقه، تعداد گل، تعداد برگ و غیره هستند.

References

- 1- Addai, I., & Scott, P. (2011). Influence of bulb sizes at planting on growth and development of the common hyacinth and the lily. *Agriculture and Biology Journal of North America*, 2(2), 298-314. <https://doi.org/10.5251/abjna.2011.2.2.298.314>
- 2- Babarabie, M., Zarei, H., Dabbagh, M., Danyaei, A., & Badeli, S. (2018). Effect of various planting substrates on morphological and chlorophyll traits of *Narcissus* plant. *Journal of Chemical Health Risks*, 8(3), 122-131.
- 3- Bock, A., Sparks, T.H., Estrella, N., Jee, N., Casebow, A., Leuchner, M., & Menzel, A. (2015). Climate sensitivity and variation in first flowering of 26 *Narcissus* cultivars. *International Journal of Biometeorology*, 59(4), 477-480. <https://doi.org/10.1007/s00484-014-0885-6>
- 4- 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. <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2748>
- 5- Chehrazhi, M., Naderi, R., Shah Nejat, A. & Hasani, M. (2008). Study of genetic diversity of exotic and endemic daffodils (*Narcissus* spp.) using rapid markers. *Journal of Horticultural Science and Technology*, 8(4), 225-236. <https://sid.ir/paper/80804/en>. (In Persian)
- 6- Chehrazhi, M., Naderi, R., Shah nejat, A., Hasani, M., & Zarifi, A. (2012). evaluation of karyotype and ploidy levels in some endemic and exotic daffodils (*Narcissus* sp.) genotypes. *Journal of Plant Production*, 35(2):13-27. (In Persian)
- 7- Dhiman, M., Kumar, S., Parkash, C., Gautam, N., & Singh, R. (2019). Genetic diversity and principal component analysis based on vegetative, floral and bulbous traits in narcissus (*Narcissus pseudonarcissus* L.). *International Journal of Chemical Study*, 7(1), 724-729.
- 8- El-Naggar, A.H. (2010). Effect of biofertilizer, organic compost and mineral fertilizers on the growth, flowering and bulbs production of *Narcissus tazetta*. *Journal of Agricultural & Environmental Science*, 9(1), 24-52.
- 9- Farahmand, H., & Khosh-Khui, M. (2007). *Micropropagation of Fars endemic Narcissus populations*. Shiraz University. Ph.D. Thesis, Shiraz, Iran. 156 p.
- 10- Ge, L., Wu, J., Chen, L., Wang, R., & Tian, H. (2006). Embryological studies on *Narcissus tazetta* var. *Chinensis*. *Natural Science*, 44(1), 18-22. <https://doi.org/10.1007/s11515-005-0007-2>
- 11- Ghahraman, A., & Atar, F. (2000). *Plants Species Diversity in Iran*. Tehran University Publication, Tehran, Iran. p. 1176. (In Persian)
- 12- Gul, F., & Tahir, I. (2012). Effect of dry and wet storage at cool temperatures on postharvest performance of *Narcissus tazetta* cv. Kashmir local flowers. *Journal of Horticultural Science and Ornamental Plants*, 4(1), 75-83.
- 13- Gul, F., Tahir, I., & Shahri, W. (2015). Flower development and senescence in *Narcissus tazetta* 'Kashmir Local'. *Folia Horticulturae*, 27, 115-121. <https://doi.org/10.1515/fhort-2015-0021>
- 14- Khan, I., Khan, F., Salmani, M., Khan, M., Mir, M., & Hassan, A. (2013). Effect of bulb density, nitrogen application time and deheading on growth, yield and relative economics of daffodil cv. Tunis (*Narcissus* sp.). *African Journal of Agricultural Research*, 8(31), 4189-4193. <https://doi.org/10.5897/AJAR2013.7142>
- 15- Kizil, S., Arslan, N., Olmez-Bayhan, S., & Khawar, K.M. (2008). Effects of different planting dates on improving yield of *Fritillaria imperialis* L. and *Fritillaria persica* L. bulbs damaged by small narcissus fly (*Eumerus strigatus* Fallen). *African Journal of Biotechnology*, 7(24), 4454-4458. <http://www.academicjournals.org/AJB>
- 16- Li, X., Lu, M., Tang, D., & Shi, Y. (2015). Composition of carotenoids and flavonoids in narcissus cultivars and their relationship with flower color. *Plos One*, 10, e142074. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0142074>
- 17- Maxwell, K., & Johnson, G.N. (2000). Chlorophyll fluorescence, a practical guide. *Journal of Experimental Botany*, 51(345), 659-668. <https://doi.org/10.1093/jxb/51.345.659>

- 18- Miller, W.B., & Olberg, M.W. (2016). Novel ethephon application methods for *Narcissus*. *HortScience*, 51(10), 1245-1250. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI11188-16>
- 19- Mozafarian, V. (1996). *Dictionary of Iranian Plants Names*. Contemporary Culture Publication. Tehran, Iran. p. 671. (In Persian)
- 20- Noy-Porat, T., Flaishman, M.A., Eshel, A., Sandler-Ziv, D., & Kamenetsky, R. (2009). Florogenesis of the Mediterranean geophyte *Narcissus tazetta* and temperature requirements for flower initiation and differentiation. *Scientia Horticulturae*, 120, 138-142. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2008.09.016>
- 21- Slezák, K.A., Mazur, J., Jezdinský, A., & Kapczyńska, A. (2020). Bulb size interacts with lifting term in determining the quality of *Narcissus poeticus* L. propagation material. *Agronomy*, 10(7), 975. <https://doi.org/10.3390/agronomy10070975>
- 22- Tanaka, Y., Sasaki, N., & Ohmiya, A. (2008). Biosynthesis of plant pigments: anthocyanins, betalains and carotenoids. *Plant*, 54, 733–749. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2008.03447.x>
- 23- Xia, Y., Zheng, H., & Huang, C. (2004). Studies on the bulb development and its physiological mechanisms in *Lilium oriental* hybrids. *IX International Symposium on Flower Bulbs*, 673, 91-98. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2005.673.9>

Contents

Study of Essential Oils Changes and some Biochemical Properties of <i>Ziziphora clinopodioides</i> Lam. under Application of Salicylic Acid	627
S. Sadeqifard, M. Azizi, S. Karimi Zinkanlu	
The Effect of Foliar Application of Calcium Chloride, Ascorbic Acid and Harvest Time on Fruit Quality of Tomato (<i>Solanum lycopersicum</i> cv. SV8320TD)	639
Z. Khalili, F. Nekounam, T. Barzegar, Z. Ghahremani, M. Farhangpour	
Effect of Chemical and Hand thinning on the Fruit Biochemical Properties of ‘Khadrawi’ Date Palm (<i>Phoenix dactylifera</i> L.) during Fruit Development	655
M. Jalali, N. Moallemi, E. Khaleghi, S. Zivdar, M. Rahmati-Joneidabad	
Biochemical and Physiological Responses of Peppermint (<i>Mentha piperita</i> L.) Plant to Heavy Metal Stress in Urban Areas	675
K. Poorhossein, B. Abedy, M. Shoor	
The Effect of Foliar Application of Seaweed Extract on Morphological and Physiological Traits of <i>Echium amoenum</i> Fisch. & Mey Seedlings under Salinity Stress	693
B. Rahimkhani, M. Naseri, A. Ahmadian, M. Alipanah	
Evaluation of Important Vegetative, Phenological and Pomological Characteristics of 36 Promising Almond (<i>Prunus dulcis</i> L.) Genotypes on GN15 Vegetative Rootstock	705
S.A. Mousavi, A. Vatankhah, A. Imani	
Effect of the Foliar Application of Copper Nanoparticles on the Growth and Yield of Persian Leek (<i>Allium ampeloprasum</i> subsp. <i>Persicum</i>) under Salinity Stress	727
F. Shakarami, S. Mousavi-Fard, A. Rezaei Nejad, F. Beiranvand	
Investigating the Effect of Different Concentrations of Murashige and Skoog (MS) Medium and Sucrose on the Production of Potato (<i>Solanum tuberosum</i> L.) Microtubers <i>in vitro</i>	745
F. Yarmohammadi, A. Motallebi-Azar, S. Kazemiani, M. Amani	
Effect of Cytokine Treatment on Spring Scion Stimulation of Taracco Scion on Citromelo Rootstock	763
S.M. Gholami, M. Hadadinejad, H. Moradi, H. Sadeghi	
Evaluating Morphological and Physiological Indices of Iran’s Native Daffodils (<i>Narcissus tazetta</i>) in Temperate Climate	777
S. Mirzaei, M. Chehrizi	

HORTICULTURAL SCIENCES

(AGRICULTURAL SCIENCES AND TECHNOLOGY)

Vol. 38

No. 4

2024

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:

Tehrani, A. (Horticultural Sciences)

Prof. Ferdowsi University of Mashhad.

Editorial Board:

Arouiee, H.	Horticultural Sciences	Asso. Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
Abedi, B.	Horticultural Sciences	Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
Tehrani, 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, S.H.	Research Scientist	Bioproducts and Bioprocesses, Agriculture and Agri-Food Canada.
Khazaei, H.	Plant Breeding	Plant Breeding, AVRDC - The World Vegetable Center.
Davarynejad, G.H.	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>



Ferdowsi University
of Mashhad

Vol. 38

No. 4

2024

Journal of Horticultural Science

(Agricultural Science and Technology)



ISSN: 2008-4730

Contents

- Study of Essential Oils Changes and some Biochemical Properties of *Ziziphora clinopodioides* Lam. under Application of Salicylic Acid** 627
S. Sadeqifard, M. Azizi, S. Karimi Zinkanlu
- The Effect of Foliar Application of Calcium Chloride, Ascorbic Acid and Harvest Time on Fruit Quality of Tomato (*Solanum lycopersicum* cv. SV8320TD)** 639
Z. Khalili, F. Nekounam, T. Barzegar, Z. Ghahremani, M. Farhangpour
- Effect of Chemical and Hand thinning on the Fruit Biochemical Properties of ‘Khadrawi’ Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.) during Fruit Development** 655
M. Jalali, N. Moallemi, E. Khaleghi, S. Zivdar, M. Rahmati-Joneidabad
- Biochemical and Physiological Responses of Peppermint (*Mentha piperita* L.) Plant to Heavy Metal Stress in Urban Areas** 675
K. Poorhossein, B. Abedy, M. Shoor
- The Effect of Foliar Application of Seaweed Extract on Morphological and Physiological Traits of *Echium amoenum* Fisch. & Mey Seedlings under Salinity Stress** 693
B. Rahimkhani, M. Naseri, A. Ahmadian, M. Alipanah
- Evaluation of Important Vegetative, Phenological and Pomological Characteristics of 36 Promising Almond (*Prunus dulcis* L.) Genotypes on GN15 Vegetative Rootstock** 705
S.A. Mousavi, A. Vatankhah, A. Imani
- Effect of the Foliar Application of Copper Nanoparticles on the Growth and Yield of Persian Leek (*Allium ampeloprasum* subsp. *Persicum*) under Salinity Stress** 727
F. Shakarami, S. Mousavi-Fard, A. Rezaei Nejad, F. Beiranvand
- Investigating the Effect of Different Concentrations of Murashige and Skoog (MS) Medium and Sucrose on the Production of Potato (*Solanum tuberosum* L.) Microtubers in vitro** 745
F. Yarmohammadi, A. Motallebi-Azar, S. Kazemiani, M. Amani
- Effect of Cytokine Treatment on Spring Scion Stimulation of Taracco Scion on Citromelo Rootstock** 763
S.M. Gholami, M. Hadadinejad, H. Moradi, H. Sadeghi
- Evaluating Morphological and Physiological Indices of Iran’s Native Daffodils (*Narcissus tazetta*) in Temperate Climate** 777
S. Mirzaei, M. Chehrizi