نشریه علمی
علـوم باغبـانی
(علوم و صنایع کشاورزی)

جلد ۴۰ شماره ۳
سال ۱۴۰۵

شماره پیاپی ۷۱

شاپا: ۲۰۰۸-۴۷۳۰

عنوان مقالات

ارزیابی محتوای عناصر غذایی، ترکیبات بیوشیمیایی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی قارچ دارویی گانودرما لوسیدوم (*Ganoderma lucidum*) ۳۶۹
ژاله زندوی فرد- مجید عزیزی- مجید درودی- آذر حسینی

تأثیر سایه‌دهی و رنگ سایبان بر ویژگی‌های کمّی و کیفی میوه انار (*Punica granatum* L.) رقم 'رباب' ۳۸۵
علی رضا بنیان پور - فاطمه اسفندیاری بیات

مطالعه شاخص‌های فیزیولوژیک و مورفولوژیک در سه گونه پوششی فضای سبز شهری در شرایط تنش خشکی ۴۰۳
محمد احمدپور- آزاده موسوی بزاز- علی تهرانی فر

برهم‌کنش بین پایه و پیوندک: سرشاخه‌کاری تاک‌های انگور (*Vitis vinifera*) (پایه Bidaneh-sefid) به‌روش اسکنه‌ای با استفاده از ارقام انگور خارجی به‌عنوان پیوندک ۴۱۷
سکینه فرجی- ثریا کرمی- سید محمدمهدی میرفتاح

ارزیابی ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه استویا (*Stevia rebaudiana* Bertoni) تیمارشده با نانوذرات پرولین و کود ضایعات ماهی در پاسخ به تنش شوری ۴۳۵
زهرا مهدوی- بهروز اسماعیل‌پور- رسول آذرمی

بررسی اثر الیسیتورهای مختلف بر خصوصیات رشدی و فیتوشیمیایی گیاه مریم‌گلی (*Salvia officinalis* L.) در شرایط کشت هیدروپونیک ۴۵۵
رضا آزادی گنبد- نسرین فرهادی

مطالعه الگوی بیان ژن‌های *OeFAD7* و *OeFAD3* طی مراحل رشدی میوه برخی ارقام زیتون‌های (*Olea europaea* L.) ایرانی و خارجی ۴۶۹
فاطمه رازقی جهرمی- عبدالکریم زارعی- فرشید پروینی

افزایش ماندگاری قارچ دکمه‌ای (*Agaricus bisporus*) با استفاده از پوشش‌های نانوکامپوزیتی زیست‌تجدیدپذیر مبتنی بر نانوکیتوزان و نانوهیدروکسی آپاتیت ۴۸۳
زهرا ضیائی قهنویه- محمد رضا راجی- عبدالله احتشام نیا- سید سجاد سهرابی

تأثیر تیدیازورون بر ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه پروانش (*Catharanthus roseus* L.) تحت تنش کم‌آبیاری ۵۰۳
مینا قاسمی کمالوند- عبدالحسین رضایی نژاد- فرهاد بیرانوند- ناهید زمردی

اثر عناصر ریزمغذی و کودهای حاوی NPK روی برخی صفات فیزیولوژیکی، کیفیت و عملکرد میوه گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum*) تحت تنش شوری ۵۲۵
آیدین توبه- احمد توبه

بهینه‌سازی محیط‌کشت گل راعی (*Hypericum perforatum*) با هدف کال‌زایی، باززایی و ریشه‌زایی ریزنمونه‌های برگ و ساقه ۵۳۹
نگین افشارزاده- مجید عزیزی- لیلا سمیعی

اثر کودآبیاری اسید هیومیک و اسید آمینه بر تغییرات مرفوفیزیولوژیکی گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum* L.) گلخانه‌ای رقم 'ترمه' تحت شرایط کم‌آبیاری ۵۵۱
مهدی شهریاری- حسین آروئی- بهرام عابدی

نشریه علوم باغبانی

(علوم و صنایع کشاورزی)

با شماره پروانه ــــــــ و درجه علمی – پژوهشی شماره ــــــــ از وزارت علوم، تحقیقات و فناوری

21/2015 **68/4/11**

26524 **73/10/19**

جلد 40 **شماره 3** **پاییز 1405**

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

صاحب امتیاز: دانشگاه فردوسی مشهد

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

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

اعضای هیئت تحریریه:

عابدی، بهرام	علوم باغبانی ومهندسی فضای سبز (دانشگاه فردوسی مشهد)
تهرانی فر، علی	علوم باغبانی ومهندسی فضای سبز (دانشگاه فردوسی مشهد)
شور، محمود	علوم باغبانی ومهندسی فضای سبز (دانشگاه فردوسی مشهد)
حقیقی، مریم	علوم باغبانی (دانشگاه صنعتی اصفهان)
حسن زاده مبینی، سعید	بخش بیولوژی (دانشگاه کویین کانادا)
خانی زاده، شاهرخ	موسسه کشاورزی و غذا اوتاوا کانادا
خزاعی، حمید	پژوهشگر مرکز جهانی اصلاح و تولید بذر سبزی تایوان
داوری نژاد، غلامحسین	علوم باغبانی ومهندسی فضای سبز (دانشگاه فردوسی مشهد)
راحمی، مجید	علوم باغبانی (دانشگاه شیراز)
زمانی، ذبیح اله	علوم باغبانی (دانشگاه تهران)
شریفانی، محمد مهدی	علوم باغبانی (دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان)
عزیزی، مجید	گیاهان دارویی (دانشگاه فردوسی مشهد)
عبادی، علی	علوم باغبانی (دانشگاه تهران)
فلاحی، اسماعیل	گروه علوم باغبانی دانشگاه آیداهوی آمریکا
فارسی، محمد	ژنتیک واصلاح نباتات (دانشگاه فردوسی مشهد)
کافی، محسن	گلکاری ومهندسی فضای سبز (دانشگاه تهران)
فوجی، یوشی هارو	دانشگاه کشاورزی و فناوری توکیو ژاپن

ناشر: دانشگاه فردوسی مشهد

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

پست الکترونیکی: Jhorts4@um.ac.ir

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

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

HORTICULTURAL SCIENCES

(AGRICULTURAL SCIENCES AND TECHNOLOGY)



مندرجات

ارزیابی محتوای عناصر غذایی، ترکیبات بیوشیمیایی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی قارچ دارویی گانودرما لوسیدوم (*Ganoderma lucidum*) 369
ژاله زندوی فرد- مجید عزیزی- مجید درودی- آذر حسینی

تأثیر سایه‌دهی و رنگ سایبان بر ویژگی‌های کمّی و کیفی میوه انار (*Punica granatum* L.) رقم 'رباب' 385
علی رضا بنیان پور - فاطمه اسفندیاری بیات

مطالعه شاخص‌های فیزیولوژیک و مورفولوژیک در سه گونه پوششی فضای سبز شهری در شرایط تنش خشکی 403
محمد احمدپور- آزاده موسوی بزاز- علی تهرانی فر

برهم‌کنش بین پایه و پیوندک: سرشاخه‌کاری تاک‌های انگور (*Vitis vinifera*) (پایه Bidaneh-sefid) به‌روش اسکنه‌ای با استفاده از ارقام انگور خارجی به‌عنوان پیوندک 417
سکینه فرجی- ثریا کرمی- سید محمدمهدی میرفتاح

ارزیابی ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه استویا (*Stevia rebaudiana* Bertoni) تیمارشده با نانوذرات پرولین و کود ضایعات ماهی در پاسخ به تنش شوری 435
زهرا مهدوی- بهروز اسماعیل‌پور- رسول آذرمی

بررسی اثر الیسیتورهای مختلف بر خصوصیات رشدی و فیتوشیمیایی گیاه مریم‌گلی (*Salvia officinalis* L.) در شرایط کشت هیدروپونیک 455
رضا آزادی گنبد- نسرین فرهادی

مطالعه الگوی بیان ژن‌های *OeFAD7* و *OeFAD3* طی مراحل رشدی میوه برخی ارقام زیتون‌های (*Olea europaea* L.) ایرانی و خارجی 469
فاطمه رازقی جهرمی- عبدالکریم زارعی- فرشید پروینی

افزایش ماندگاری قارچ دکمه‌ای (*Agaricus bisporus*) با استفاده از پوشش‌های نانوکامپوزیتی زیست‌تجدیدپذیر مبتنی بر نانوکیتوزان و نانوهیدروکسی آپاتیت 483
زهرا ضیائی قهنویه- محمد رضا راجی- عبدالله احتشام نیا- سید سجاد سهرابی

تأثیر تیدیازورون بر ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه پروانش (*Catharanthus roseus* L.) تحت تنش کم‌آبیاری 503
مینا قاسمی کمالوند- عبدالحسین رضایی نژاد- فرهاد بیرانوند- ناهید زمردی

اثر عناصر ریزمغذی و کودهای حاوی NPK روی برخی صفات فیزیولوژیکی، کیفیت و عملکرد میوه گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum*) تحت تنش شوری 525
آیدین توبه- احمد توبه

بهینه‌سازی محیط‌کشت گل راعی (*Hypericum perforatum*) با هدف کال‌زایی، باززایی و ریشه‌زایی ریزنمونه‌های برگ و ساقه 539
نگین افشارزاده- مجید عزیزی- لیلا سمیعی

اثر کودآبیاری اسید هیومیک و اسید آمینه بر تغییرات مرفوفیزیولوژیکی گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum* L.) گلخانه‌ای رقم 'ترمه' تحت شرایط کم‌آبیاری 551
مهدی شهریاری- حسین آروئی- بهرام عابدی

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

Research Article
Vol. 40, No. 3, Fall 2026, p. 367-381

Assessment of Nutrient Elements, Biochemical Compounds, and Antioxidant Activity of the Medicinal Mushroom *Ganoderma lucidum*

J. Zandavifard[1], M. Azizi[1*], M. Darroudi[2], A. Hosseini[3]

1- Department of Horticulture Science and Landscape Architecture, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
2- Department of Medical Biotechnology and Nanotechnology, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
3- Pharmacological Research Center of Medicinal Plants, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
(*- Corresponding author's Email: azizi@um.ac.ir)

Received: 26 June 2022
Revised: 08 July 2022
Accepted: 23 July 2022
Available Online: 23 July 2022

How to cite this article:
Zandavifard, J., Azizi, M., Darroudi, M., & Hosseini, A. (2026). Assessment of nutrient elements, biochemical compounds, and antioxidant activity of the medicinal mushroom *Ganoderma lucidum*. *Journal of Horticultural Science*, *40*(3), 367-381. (In Persian). https://doi.org/10.22067/jhs.2022.77380.1181

Introduction

Ganoderma lucidum is a mushroom of high medicinal value that has been widely used in the Far East countries especially in traditional Chinese medicine as promoting human health and treatment of many diseases. Nowadays, many published studies have established that it is a rich source of nutraceutical and pharmaceutical substances with potent and unique properties as immunomodulatory agents, hypercholesterolemic agents, or coadjutant treatments in diseases such as cancer, hypertension, insomnia, anorexia, dizziness, and chronic hepatitis, among others. This species is rich in several bioactive compounds (over 400 compounds) mainly, including polysaccharides, triterpenoids, steroids, fatty acids, amino acids, nucleotides, proteins, and alkaloids. Herein, the fruiting bodies of *G. lucidum* were studied in terms of nutritional value and chemical composition, and the antioxidant activity of extracts from the fruiting bodies was further assessed.

Materials and Methods

In order to detect nutrient elements, the samples were digested using a microwave digestion system (Milestone Ethos, Germany) with a maximum power of 1000 W and further characterized using inductively coupled plasma optical emission spectroscopy (ICP-OES). Biochemical molecule contents were characterized using Acquity Ultra-Performance Liquid Chromatograph (UPLC, Waters) coupled to a photodiode array detector (PDA, Waters) and an electrospray ionization quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometer (ESI–QTOF/MS; Waters). In order to assess antioxidant activity, two kinds of extract including 80% methanolic extract (ME) and hot water (HWE) were prepared by ultrasonic method. Six different in vitro assays were used to determine antioxidant capacity, including ABTS, DPPH, superoxide (SO), nitric oxide (NO) free radicals scavenging, iron-reducing power (FRAP), and iron chelating activity (ICA). The data were analyzed by one-way analysis of variance (ANOVA) and the means were separated by the Newman-Keuls Multiple Comparison test (GraphPad Prism 8, San Diego, CA, USA). All data were expressed as mean ± standard deviation. $P \leq 0.05$ was considered to indicate a statistically significant difference. Furthermore, half-maximal inhibitory concentration (IC_{50}) values for each assay were calculated from linear or logarithmic regression using Excel software.

Results and Discussion

G. lucidum was characterized in terms of nutritional value and chemical composition. Generally, to study the

Authors retain the copyright. This is an open access article distributed under Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0).
https://doi.org/10.22067/jhs.2022.77380.1181

nutraceutical value of *G. lucidum*, 14 elements were analyzed by ICP-OES. Among the macronutrients, phosphorus and potassium (2910.8 and 1510.8 $mg.kg^{-1}$ dry matter, respectively) were the most abundant, followed by iron and zinc (8.5 and 7.74 $mg.kg^{-1}$ dry matter, respectively) among the micronutrients. In terms of biochemical compounds, a total of 37 compounds were identified, among which ganoderic acid was the most abundant compound (15890.1 ± 232.1 µg per g dry matter) followed by sinapic acid and succinic acid (2011.4 ± 28.11 and 1505.33 ± 31.5 µg per g dry matter, respectively). The results of antioxidant assays clearly revealed that the methanolic extract generally showed higher antioxidant activity than the corresponding hot water extract. In the ABTS assay, ME showed higher activity (IC_{50}, 48.46 ± 2.42 $\mu g.ml^{-1}$) than HWE (163.51 ± 4.51 $\mu g.ml^{-1}$) with a significant difference ($P \leq 0.05$). For DPPH assay, radical scavenging capacity was dose-dependent and IC_{50} values of ME (111.93 ± 1.39 $\mu g.ml^{-1}$) and HWE (213.48 ± 5.42 $\mu g.ml^{-1}$) showed a significant difference ($P \leq 0.05$). In the FRAP assay, ME showed stronger iron-reducing activity (IC_{50}, 512.64 ± 4.06 $\mu g.ml^{-1}$) than HWE (IC_{50}, 898.51 ± 7.8 $\mu g.ml^{-1}$) ($P \leq 0.01$). In the ICA assay, ME also showed higher activity (IC_{50}, 301.88 ± 7.01µg.ml-1) than HWE (IC_{50}, 545.23 ± 1.21 µg.ml-1) ($P \leq 0.01$). In the SO assay, ME (IC_{50}, 488.8 ± 7.38 $\mu g.ml^{-1}$) and HWE (IC_{50}, 645.92 ± 5.48 $\mu g.ml^{-1}$) showed a significant difference ($P \leq 0.01$). In addition, in the NO assay, both extracts showed weak nitric oxide radical scavenging activity; however, ME showed the highest activity (IC_{50}, 1189.5 ± 8.5 $\mu g.ml^{-1}$) in comparison to HWE (IC_{50}, 1343.2 ± 10.6 $\mu g.ml^{-1}$) but the difference was not statistically significant ($P = 0.0901$). The results clearly indicate that different extraction solvents used in this study significantly affected antioxidant capacities.

Conclusion

G. lucidum proved to be an important source of nutrients and antioxidant compounds such as terpenoids, especially triterpenoids, and polysaccharides. The free radical scavenging properties, reducing power and iron-chelating activity of *G. lucidum* may be mainly associated with phenolic compounds and triterpenoids. Therefore, based on the nutritional and biochemical profile of *G. lucidum*, and also its antioxidant power, this mushroom possesses high nutritional and antioxidant potential.

Keywords: Free radical scavenging, Ganoderic acid, Phenolic compounds, Reishi, Triterpenoids

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

مقاله پژوهشی

جلد ۴۰، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۵، ص. ۳۸۱-۳۶۷

ارزیابی محتوای عناصر غذایی، ترکیبات بیوشیمیایی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی قارچ دارویی *گانودرما لوسیدوم* (*Ganoderma lucidum*)

ژاله زندوی فرد[۱]- مجید عزیزی[۱*]- مجید درودی[۲]- آذر حسینی[۳]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۴/۰۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۵/۰۱

چکیده

قارچ دارویی *Ganoderma lucidum* یکی از مهم‌ترین قارچ‌های دارویی در سرتاسر جهان است که حاوی طیف وسیعی از ترکیبات دارویی ارزشمند است. این مطالعه به‌منظور بررسی میزان عناصر غذایی، محتوای ترکیبات بیوشیمیایی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی این قارچ طراحی شد. محتوای عناصر غذایی اندام بارده این قارچ به‌وسیله دستگاه اسپکترومتری نشری پلاسمای جفت‌شده القایی (ICP-OES) و محتوای ترکیبات بیوشیمیایی آن با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی با کارآیی فوق‌العاده بالا مجهز به طیف‌سنج جرمی (UPLC-MS) آنالیز گردید. به‌منظور بررسی قدرت آنتی‌اکسیدانی، عصاره‌گیری به‌روش التراسونیک با استفاده از دو حلال متانول ۸۰ درصد و آب داغ صورت گرفت و فعالیت آنتی‌اکسیدانی با شش آزمون شامل اندازه‌گیری فعالیت مهار رادیکال آزاد ۱،۱- دی فنیل-۲- پیکریل هیدرازیل (DPPH)، رادیکال ۲،۲-آزینوبیس (۳- اتیل بنزو تیازولین-۶- سلفونیک اسید) (ABTS)، رادیکال سوپراکساید (SO)، رادیکال نیتریک اکساید (NO) و قدرت احیای آهن (FRAP) و قدرت شلاته‌کنندگی آهن (ICA) مورد ارزیابی قرار گرفتند. آنالیز واریانس یک‌سویه و متعاقب آن نیومن کولز توسط نرم‌افزار گراف پد پریزم ۸ به‌منظور مقایسه میانگین‌ها به کار رفت. نتایج حاکی از آن بود که عناصر فسفر و پتاسیم (۲۹۱۰/۸ و ۱۵۱۰/۸ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک) به‌ترتیب بیشترین مقدار از درشت‌مغذی‌ها و عناصر آهن و روی (۸/۵ و ۷/۷۴ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک) سهم قابل توجهی از ریزمغذی‌ها را به خود اختصاص دادند. در مجموع، ۳۷ ترکیب بیوشیمیایی شناسایی شد که گنودریک اسید با بیشترین مقدار (۲۳۲/۱ ± ۱۵۸۹۰/۱ میکروگرم در گرم ماده خشک) و پس از آن سیناپیک اسید و سوکسینیک اسید (۲۸/۱۱ ± ۲۰۱۱/۴ و ۳۱/۵ ± ۱۵۰۵/۳۳ میکروگرم در گرم ماده خشک) به‌عنوان ترکیبات غالب شناسایی شدند. به‌طورکلی، هر دو عصاره آبی و متانولی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی را در مهار رادیکال‌های آزاد DPPH، ABTS، SO و NO و همچنین قدرت احیاکنندگی و شلاته‌کنندگی آهن نشان دادند که این پتانسیل در یک رفتار وابسته به غلظت بیشتر نمایان شد. به‌طور کلی، عصاره متانولی قدرت آنتی‌اکسیدانی بالاتری نسبت به عصاره آب داغ نشان داد (مقدار IC_{50} پایین‌تر)؛ بااین‌وجود، هر دو عصاره حاوی طیفی از ترکیبات زیست‌فعال قارچ هستند که می‌توانند در فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها نقش داشته باشد. با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش، قارچ *G. lucidum* پتانسیل قابل توجهی از نظر محتوای عناصر غذایی، ترکیبات زیست‌فعال و قدرت آنتی‌اکسیدانی به‌منظور کاربرد در صنایع غذایی و دارویی دارد.

واژه‌های کلیدی: ترکیبات فنولی، تری‌ترپنوئیدها، ری‌شی، گنودریک اسید، مهار رادیکال‌های آزاد

مقدمه

با توجه به گرایش روزافزون بشر به استفاده از ترکیبات طبیعی، قارچ‌ها نیز به‌عنوان یکی از منابع زیستی مهم با ارزش غذایی بالا و متابولیت‌های ثانویه منحصربه‌فرد، به‌منظور تولید فرمول‌های دارویی جدید بیش از پیش مورد توجه جوامع علمی قرار گرفته‌اند (Li, Zhang et al., 2013).

در این میان، قارچ *گانودرما لوسیدوم* (*Ganoderma lucidum*) (Fr.) Karst) با کاربردهای تاریخی چندهزار ساله به‌منظور اهداف درمانی، شهرت زیادی در سراسر جهان دارد. این قارچ یک

۱- گروه علوم باغبانی و فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۲- گروه بیوتکنولوژی پزشکی و نانوتکنولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

۳- مرکز تحقیقات فارماکولوژیک گیاهان دارویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

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

https://doi.org/10.22067/jhs.2022.77380.1181

بازیدیومایست[1] متعلق به راسته پلی پورالس[2] و خانواده گنودرماتاسه[3] می‌باشد (Dong et al., 2019). این قارچ، به رنگ‌های قرمز، قرمز مایل به قهوه‌ای و زرد روشن در سراسر جهان از آمازون تا مناطق جنوبی آمریکای شمالی و قسمت‌های وسیعی از آسیا یافت می‌شود (Stamets, 2011).

استفاده از این قارچ در کشورهای خاور دور به‌خصوص ژاپن، چین و کره به‌منظور پیشگیری و درمان بیماری‌های مختلف و افزایش طول عمر به بیش از ۲۰۰۰ سال پیش برمی گردد (Zhou et al., 2007). مطالعات فارماکولوژیک اخیر نشان می‌دهد که *G. lucidum* دارای خواص ضدالتهابی، آنتی‌اکسیدانی، تعدیل‌کننده سیستم ایمنی، ضددیابت، کاهنده کلسترول و فشار خون، ضدسرطان و ضدویروس است (Dong et al., 2019). گزارش‌های متعددی در مورد ترکیبات اصلی این قارچ که مسئول خواص درمانی آن هستند تاکنون به چاپ رسیده است. اندام بارده، میسلیوم و اسپور آن، به‌عنوان منابع تولید مواد مؤثره حاوی بیش از ۴۰۰ ترکیب بیولوژیکی فعال هستند که به‌طور عمده شامل تری‌ترپن‌ها (به‌ویژه گنودریک اسید)، پلی‌ساکاریدها، پروتئین‌ها، فنول‌ها، نوکلئوتیدها، استروئیدها، اسیدهای چرب و همچنین عناصر به‌میزان کم هستند (Bishop et al., 2015). همچنین مشخص شده است که *G. lucidum* دارای ارزش غذایی بالایی است، به‌عنوان مثال پلی ساکاریدها (۳۰–۲۸ درصد)، پروتئین‌ها (۲۰–۱۸ درصد)، کربوهیدرات‌ها (۱۲–۱۰ درصد)، چربی‌ها (۴–۲ درصد)، علاوه‌براین مقادیر بالای فیبر و مواد معدنی دارد (Mohsin et al., 2011).

اگرچه تری‌ترپن‌ها (به‌ویژه گنودریک اسید) و پلی ساکاریدها به‌عنوان مهم‌ترین ترکیبات این قارچ با خواص ضدسرطان شناخته شده‌اند و در کشت‌های درون شیشه‌ای علیه تومورهای سرطانی (Lin et al., 2003) و برخی بیماری‌های دیگر نظیر ایدز (Hattori, 2001) نتایج بسیار رضایت‌بخشی نشان داده‌اند، امّا مطالعات اخیر نشان می‌دهد که بخشی از اثرات مفید گانودرما بر سلامتی انسان را می‌توان به نقش ترکیبات آنتی‌اکسیدان آن در پیشگیری و کنترل بیماری‌هایی نظیر بیماری قلبی و سرطان نسبت داد، که آسیب تخریبی ناشی از فعالیت رادیکال‌های آزاد را کاهش می‌دهد (Dong et al., 2019; Collins, 2005).

در بسیاری از موجودات زنده، اکسیداسیون یک امر ضروری به‌منظور فراهم کردن انرژی مورد نیاز برای فرآیندهای فیزیولوژیکی محسوب می‌شود. بااین‌وجود گاهی عوامل خارجی از جمله عوامل زیست‌محیطی منجر به تولید رادیکال‌های آزاد و سایر گونه‌های فعال اکسیژن در میتوکندری می‌شوند که تأثیر آن بر هم زدن تعادل بین آنتی‌اکسیدان‌ها و رادیکال‌های آزاد است. بدن انسان به‌طور مداوم تحت تأثیر تنش اکسیداتیو است که منجر به ایجاد بیماری‌های قلبی–عروقی، اختلالات عصبی، اختلالات کلیوی، اختلالات کبدی، فشار خون، سندرم دیسترس تنفسی بزرگسالان، بیماری خود ایمنی، دیابت، اوتیسم، آلزایمر، پارکینسون، هانتینگتون، زخم معده، هموکروماتوز و پره اکلامپسی می‌گردد (Halliwell, 2007; Singh et al., 2010).

رادیکال‌های آزاد در واقع اتم، مولکول یا یونی با الکترون جفت نشده است. در نتیجه ،بسیار ناپایدار و فعال برای واکنش‌های شیمیایی با مولکول‌های دیگر هستند. اکسیژن، نیتروژن و سولفور سه عنصر تشکیل‌دهنده رادیکال‌های آزاد هستند که به‌ترتیب گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، گونه‌های فعال نیتروژن (RNS) و گونه‌های فعال سولفور(RSS) را تولید می‌کنند (Lo & Cheung, 2005). آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که می‌توانند از تولید رادیکال‌ها آزاد و پرواکسیدانت‌ها با دو سیستم آنزیمی و غیرآنزیمی مهار یا جلوگیری کنند (Ćilerdžić et al., 2014). آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی مانند آنزیم سوپراکساید دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز به‌طورغیرمستقیم رادیکال‌های آزاد را خنثی می‌کنند. آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی شامل ویتامین‌های A و E و ترکیباتی چون سلنیم و روی، کوفاکتورهای آنزیمی و پپتیدها مانند گلوتاتیون هستند (El Sheikha, 2022; Gülçın et al., 2003). فنول‌ها گروهی از ترکیبات آنتی‌اکسیدان موجود در گیاهان هستند که خاصیت آنتی‌اکسیدانی این ترکیبات مربوط به گروه‌های هیدروکسیل فنولیک واقع در ساختار حلقوی است و به‌عنوان اهداکننده هیدروژن، سرکوب‌کننده اکسیژن یگانه، مهارکننده رادیکال‌های آزاد سوپراکساید و شلاته‌کننده فلزات عمل می‌کنند. فنول‌ها همچنین با داشتن فعالیت آنتی‌اکسیدانی، می‌توانند رادیکال‌های آزاد را مهار کرده و در برابر اکسیداسیون ترکیبات زیستی از جمله لیپیدها و پروتئین‌ها نقش محافظتی داشته باشند (Terpinc et al., 2011). گزارش‌های موجود حاکی از آن است که مهار رادیکال‌های آزاد، کاهش قدرت و مهار پراکسیداسیون لیپیدی توسط *G. lucidum* با ترکیبات فنولی این قارچ در ارتباط بوده است (Stojković et al., 2014) ترکیبات فنولی *G. lucidum* به‌طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته‌اند و اسیدهای فنولیک شامل اسیدهای کلروژنیک، سینامیک، گالیک، پروتوکاتچوئیک، پی–هیدروکسی بنزوئیک و پی–کوماریک برجسته‌ترین آن‌ها هستند که مسئول خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدمیکروبی و ضدالتهابی این قارچ می‌باشند (Oludemi et al., 2018; Taofiq et al., 2017). گزارش‌های متعددی روی خواص آنتی‌اکسیدانی گانودرما با عصاره

1- Basidiomycete
2- Polyporales
3- Ganodermataceae

متانولی (Heleno et al., 2012; Karaman et al., 2010; Kim et al., 2008) عصاره اتانولی (Ćilerdžić et al., 2014; Sengul et al., 2009) و همچنین عصاره آبی (Heleno et al., 2012; Kozarski et al., 2012) تمرکز کرده‌اند که نشان می‌دهد خاصیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد مربوط به وجود پلی‌ساکاریدها و ترکیب‌های فنولی این قارچ است. اگرچه *G. lucidum* منبع قوی از ترکیبات فنولی نیست، امّا برخی تحقیقات گزارش کردند که این ترکیبات بیشترین نقش را در فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره دارد.

ازآنجاکه نوع حلال تأثیر قابل توجهی بر دینامیک فرآیند استخراج و ترکیب شیمیایی عصاره دارد، بنابراین می‌توان پارامترهای استخراج را به‌منظور دستیابی به عصاره با ترکیبات دلخواه بهینه‌سازی کرد. مطالعات قبلی نشان می‌دهد که عصاره متانولی قارچ گانودرما، پتانسیل آنتی‌اکسیدان بالاتری در مقایسه با عصاره آبی دارد (Rawat et al., 2011) بااین‌وجود متانول بسیار سمی است و حلال مناسبی برای عصاره به‌منظور کاربرد در صنایع غذایی محسوب نمی‌شود. اگرچه شناخت ترکیب شیمیایی قارچ بسیار مهم است، ولی اطلاعات در مورد شرایط استخراج بهینه و ترکیباتی که عمدتاً در پتانسیل آنتی‌اکسیدانی عصاره نقش دارند، محدود است (Ćilerdžić et al., 2014; Saltarelli et al., 2015).

G. lucidum به‌طور طبیعی در زیستگاه‌های خود کمیاب است، از طرفی دیگر به‌دنبال فواید ارزشمند اثبات شده‌ای که برای سلامتی انسان دارد، صنایع غذایی و دارویی در سرتاسر جهان در حال عرضه فرمولاسیون‌های مختلف از این قارچ عمدتاً به‌عنوان مکمل غذایی، شربت، چای و قهوه با ارزش سالانه بیش از ۲/۵ میلیارد دلار در بازار جهانی هستند. ازاین‌رو کشت مصنوعی آن به‌طور گسترده در سراسر جهان به‌خصوص در کشورهای آسیایی رو به افزایش است (Li, Liu et al., 2013; Mohsin et al., 2011; Wachtel-Galor et al., 2011). برخی مطالعات انجام‌شده، تأثیر شرایط پرورش قارچ بر کمیت و کیفیت ترکیبات فعال موجود در آن را به‌عنوان یک عامل بسیار مهم گزارش کردند (Soković et al., 2018). طبق پژوهشی که صورت گرفته است، مقادیر پروتئین خام، کربوهیدرات و فیبر خام از نمونه رشدیافته تحت کشت مصنوعی نسبت به نمونه جمع‌آوری‌شده بیشتر است (Zhou et al., 2007).

ازآنجاکه سیستم‌های دفاعی برای جلوگیری از آسیب اکسیداتیو به‌طورکلی ناکافی هستند، تلاش برای یافتن مواد غذایی با پتانسیل آنتی‌اکسیدانی بالا، همیشه یکی از متداول‌ترین و پویاترین زمینه پژوهشی است. در پژوهش حاضر، قارچ *G. lucidum* پرورش‌یافته در شرایط مصنوعی از نظر ارزش عناصر غذایی، ترکیبات بیوشیمیایی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی علیه انواع گونه‌های رادیکال آزاد از قبیل DPPH، ABTS، سوپراکساید، نیتریک اکساید، قدرت شلاته‌کنندگی آهن و قدرت احیاکنندگی مورد بررسی قرار گرفت. ازآنجایی‌که کاربرد حلال‌های گوناگون طی استخراج منجر به جداسازی طیف ترکیبات مختلف با غلظت‌های متفاوت می‌گردد، به‌منظور بررسی بهتر اثر ترکیبات بیوشیمیایی این قارچ در مهار رادیکال‌های آزاد مختلف، از دو سیستم حلال آبی و متانولی استفاده گردید.

مواد و روش‌ها

مواد شیمیایی: کلیه مواد استاندارد، معرف‌ها و حلال‌های شیمیایی از شرکت‌های مرک آلمان و سیگما-آلدریچ آمریکا تهیه گردید.

آنالیز عناصر غذایی: برای هضم نمونه‌ها از دستگاه هضم مایکروویو (Milestone Ethos) ساخت کشور آلمان با حداکثر توان ۱۰۰۰ وات استفاده شد. برای تشخیص عناصر از دستگاه اسپکترومتری نشری پلاسمای جفت‌شده القایی (ICP-OES) مدل (Avio 560 Max) ساخت شرکت پرکین المر کشور آلمان با مشعل ۲/۵ میلی‌متری استفاده گردید.

آنالیز کروماتوگرافی ترکیبات بیوشیمیایی: تشخیص ترکیبات بیوشیمیایی به‌وسیله دستگاه کروماتوگرافی مایع با عملکرد فوق‌العاده بالا (UPLC, Waters) مجهز به آشکارساز آرایه دیودی (PDA, Waters) و طیف‌سنج جرمی (ESI–QTOF/MS; Waters) انجام گرفت. جداسازی کروماتوگراف با استفاده از ستون (UPLC® BEH C18, 100 mm × 2.1 mm, 1.7 µm, Waters) صورت گرفت. از دو فاز متحرک شامل فاز متحرک A (آب فوق خالص با اسید فرمیک ۰/۱ درصد) و فاز متحرک B (استونیتریل با اسید فرمیک ۰/۱ درصد) استفاده گردید. ۱۰ میکرولیتر نمونه تزریق شد و طیف جذبی در محدوده ۲۱۰ تا ۴۰۰ نانومتر آنالیز گردید.

مشخصات دستگاه میکروپلیت ریدر: به‌منظور قرائت جذب نمونه‌ها در پلیت ۹۶ خانه از دستگاه میکروپلیت ریدر مدل (SpectraMax Plus 384) ساخت کشور آمریکا استفاده گردید.

آماده‌سازی عصاره: اندام بارده قارچ *G. lucidum* نژاد Akitama-shiki از سالن پرورش قارچ واقع در مرکز گلخانه‌های تحقیقاتی گروه علوم باغبانی دانشگاه فردوسی مشهد تهیه گردید. به‌منظور تهیه عصاره، ابتدا نمونه را کاملاً تمیز نموده و به‌منظور خشک کردن در آون با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت نگه‌داری شد. سپس توسط آسیاب کاملاً پودر شده و از الک ۶۰ مش عبور داده شد. جهت تهیه عصاره متانولی، به‌مقدار ۲۰ گرم پودر حاصل، در مجموع ۳۰۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد طی دو مرحله اضافه گردید و پس از قرارگیری در دستگاه سونیکاتور به مدت دو ساعت، به مدت یک شبانه‌روز در روتاری شیکر با دور ۱۲۰ دور در

دقیقه قرار داده شد. پس از آن عصاره با استفاده از پمپ خلأ از کاغذ واتمن شماره ۴۰ عبور داده شد. سپس برای حذف حلال از دستگاه روتاری اواپراتور و در نهایت به‌منظور حذف کامل حلال از دستگاه خشک‌کن انجمادی استفاده گردید. پودر عصاره حاصل تا زمان انجام آزمایش‌ها در یخچال چهار درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. به‌منظور تهیه عصاره آب داغ نیز ۲۰ گرم از پودر نمونه به ۳۰۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه اضافه گردید و سپس به مدت دو ساعت در بن‌ماری با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از آن، به مدت یک شبانه‌روز در دمای آزمایشگاه روی روتاری شیکر قرار گرفت. تمامی مراحل ذکرشده جهت جداسازی حلال به‌طور هم‌زمان برای عصاره آب داغ نیز صورت گرفت.

ارزیابی قدرت مهارکنندگی رادیکال (ABTS)

جهت بررسی قدرت مهار رادیکال ABTS از روش آگستین و همکاران (Agustin-Salazar et al., 2014) با اندکی تغییر استفاده شد. به‌منظور تهیه محلول کاری کاتیون ABTS، ابتدا محلول‌های استوک شامل ABTS (هفت میلی‌مولار) و پتاسیم پرسولفات (۲/۴۵ میلی‌مولار) تهیه شده و سپس به‌میزان مساوی با یکدیگر مخلوط شدند. جهت انکوباسیون، محلول حاصل به مدت ۱۲ تا ۱۶ ساعت در دمای اتاق و تاریکی قرار گرفت. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول کاری ABTS را با ۴۴ میلی‌لیتر بافر استات رقیق نموده تا جذبی حدود ۰/۰۳±۰/۷۴ در طول موج ۷۳۴ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتری حاصل گردد. پس از تهیه غلظت‌های مختلف از هر عصاره جهت محاسبه IC_{50}، میزان ۱۲ میکرولیتر عصاره و ۱۸۸ میکرولیتر محلول ABTS در چهار تکرار به چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه اضافه شدند. در این آزمایش، از ترولوکس به‌عنوان شاهد مثبت استفاده گردید. در انتها، پس از گذشت ۳۰ دقیقه از انکوباسیون، جذب نوری پلیت ۹۶ خانه در طول موج ۷۳۴ نانومتر قرائت گردید و درصد مهارکنندگی با استفاده از معادله ۱ به دست آمد.

(۱) درصد مهارکنندگی رادیکال = [(جذب شاهد)/(جذب نمونه-جذب شاهد)] × 100

ارزیابی قدرت مهارکنندگی رادیکال‌های ۱،۱- دی فنیل-۲-پیکریل هیدرازیل (DPPH)

ارزیابی پتانسیل آنتی‌اکسیدانی از طریق مهار رادیکال‌های ۱،۱- دی فنیل-۲- پیکریل هیدرازیل طبق روش هوگان و همکاران (Hogan et al., 2010) انجام شد. بدین ترتیب که ابتدا محلول ۰/۱ میلی‌مولار DPPH در اتانول ۹۶ درصد تهیه شد. سپس ۱۳۰ میکرولیتر از محلول مذکور به ۲۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف عصاره‌های قارچ در چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه‌ای اضافه شدند. از محلول ترولوکس به‌عنوان شاهد مثبت در این آزمایش استفاده گردید. پس از آماده شدن پلیت به مدت یک ساعت در شرایط تاریکی و دمای اتاق قرار داده شد و در نهایت جذب هر چاهک در طول موج ۵۱۵ نانومتر توسط دستگاه میکروپلیت ریدر به ثبت رسید. درصد به دام‌اندازی رادیکال DPPH طبق معادله ۱ محاسبه گردید.

ارزیابی قدرت احیاکنندگی آهن (FRAP)

اندازه‌گیری پتانسیل آنتی‌اکسیدانی از طریق FRAP به‌روش کین و همکاران (Qin et al., 2017) انجام شد. بدین منظور، ابتدا محلول کار FRAP به‌روش زیر تهیه گردید. میزان ۱۰ میلی‌لیتر بافر استات (۳۰۰ میلی‌مولار، پی اچ ۳/۶) با یک میلی‌لیتر محلول TPTZ محلول در اسیدکلریدریک (۴۰ میلی‌مولار) مخلوط شد. سپس به مخلوط حاصل، یک میلی‌لیتر محلول کلرید فریک (۲۰ میلی‌مولار) اضافه گردید و محلول فوق در حمام آبی به دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد رسانده شد. در نهایت، میزان ۷۵ میکرولیتر از محلول کاری به ۱۰ میکرولیتر از عصاره در چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه اضافه گردید. پس از گذشت ۱۵ دقیقه انکوباسیون در تاریکی، جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۹۳ نانومتر با استفاده از دستگاه میکروپلیت ریدر ارزیابی شد و داده‌ها به‌صورت معادل میلی‌مولار آهن دوظرفیتی در گرم نمونه با استفاده از منحنی کالیبراسیون محلول سولفات آهن ($FeSO_4.7H_2O$) در محدود ۲۰۰ تا ۲۰۰۰ میکرومولار محاسبه شدند.

ارزیابی قدرت کلاته‌کنندگی آهن (ICA)

اندازه‌گیری قدرت کلاته‌کنندگی آهن به‌روش مقصود و بنجاکول (Maqsood & Benjakul, 2010) انجام شد. به ۵۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف هر عصاره، ۵۰ میکرولیتر محلول یک میلی‌مولار کلرید آهن دوظرفیتی اضافه گردید و پس از پنج دقیقه محلول ۰/۶ میلی‌مولار فروزین (Ferrozine) اضافه شد. پس از ۱۵ دقیقه انکوبه شدن در دمای محیط، جذب مخلوط در طول موج ۵۶۲ نانومتر اندازه‌گیری گردید. در این آزمایش، EDTA به‌عنوان شاهد مثبت در نظر گرفته شد. درصد مهار تشکیل کمپلکس آهن-فروزین با کمک معادله ۱ محاسبه شد.

ارزیابی قدرت مهارکنندگی رادیکال نیتریک اکساید (NO)

مهار رادیکال نیتریک اکساید با استفاده از روش بلاکریشنان و همکاران (Balakrishnan et al., 2009) با اندکی تغییر محاسبه گردید. بدین منظور، ۵۰ میکرولیتر سدیم نیتروپروساید (۱۰ میلی‌مولار در بافر فسفات سالین با پی اچ ۷) به ۵۰ میکرولیتر از نمونه با

غلظت‌های مختلف اضافه شد. پس از دو ساعت انکوباسیون در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد تحت روشنایی، ۲۵ میکرولیتر محلول گریس (Griess)به چاهک‌ها اضافه گردید (معرف گریس از مخلوط مقادیر مساوی سولفونیل آمید یک درصد و نفتیل اتیلن دی‌آمین دی هیدروکلراید ۰/۱ درصد در فسفریک اسید ۲/۵ درصد تهیه شد). پس از گذشت ۳۰ دقیقه انکوباسیون در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، جذب محلول در ۵۴۶ نانومتر اندازه‌گیری شد. درصد مهار طبق معادله ۱ محاسبه گردید.

ارزیابی قدرت مهارکنندگی رادیکال سوپراکسید (SO)

قدرت مهارکنندگی رادیکال سوپراکسید براساس روش بیر و فریدرویچ (Beyer-Jr & Fridovich, 1987) با اندکی تغییر اندازه‌گیری شد. اساس اندازه‌گیری قدرت مهارکنندگی این رادیکال، احیای نیتروبلوتترازولیوم (NBT) توسط رادیکال سوپراکساید و تشکیل فورمازان است. مقدار ۵۰ میکرولیتر از نمونه (در غلظت‌های مختلف) و یک میلی‌لیتر محلول واکنش در لوله‌های آزمایش ریخته شد و به‌منظور تهیه نمونه شاهد، ۲۰ میکرولیتر آب مقطر و یک میلی‌لیتر محلول واکنش در لوله‌های مربوطه ریخته و لوله‌های آزمایش حاوی نمونه‌های تیمار و شاهد به‌مدت ۱۰ دقیقه در روشنایی حاصل از نور مصنوعی در یک اتاقک قرار گرفته شدند. سپس در طول موج ۵۶۲ نانومتر، جذب نمونه‌ها قرائت و با استفاده از معادله ۱، میزان درصد فعالیت مهارکنندگی برای هر نمونه محاسبه گردید.

محاسبات آماری

تمام آزمون‌ها سه بار تکرار گردیدند و نتایج به‌صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شدند. نتایج با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه و متعاقب آن آزمون نیومن کولز تحت نرم‌افزار PRISM نسخه ۸ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. نتایج در سطح احتمال ($P \leq 0.05$) از نظر آماری معنی‌دار فرض شدند. غلظت‌های مربوط به مقادیر IC_{50} از روی رگرسیون خطی یا لگاریتمی با استفاده از نرم‌افزار Excel محاسبه گردید.

نتایج و بحث

ارزیابی محتوای عناصر غذایی و ترکیبات بیوشیمیایی:

از دیدگاه غذایی، قارچ *G. lucidum* شامل مقادیر زیادی پروتئین، فیبر، عناصر غذایی و ویتامین‌ها شامل ویتامین‌های گروه B، D، E و C می‌باشد. نتایج آنالیز عناصر غذایی میوه قارچ گانودرما با استفاده از دستگاه طیف‌سنج نشری پلاسمای جفت‌شده القایی (ICP-OES) در جدول ۱ ارائه شده است. به‌طورکلی ۱۴ عنصر شامل درشت‌مغذی‌ها و ریزمغذی‌ها مورد بررسی قرار گرفتند. عنصر فسفر و پتاسیم (۲۹۱۰/۸ و ۱۵۱۰/۸ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک) به‌ترتیب بیشترین مقدار از درشت‌مغذی‌ها را به خود اختصاص داده‌اند. به‌دنبال آن عناصر کلسیم، منیزیم و سدیم (در مقادیر ۴۷۹/۸، ۳۵۶/۵ و ۶۵/۵۸ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک) مشاهده شدند. عنصر آهن و روی (۸/۵ و ۷/۷۴ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک) سهم قابل توجهی از ریزمغذی‌ها را به خود اختصاص می‌دهند. ال شیخا (El Sheikha, 2022) به‌طور میانگین مقادیر درشت‌مغذی‌ها شامل پتاسیم، فسفر، گوگرد، منیزیم، سدیم و کلسیم را به‌ترتیب (۴۳۲، ۲۲۵، ۱۲۹، ۷/۹۵، ۲/۸۲ و ۱/۸۸ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک) و ریزمغذی‌ها را شامل مس، منگنز، آهن و روی به‌ترتیب (۲۶، ۲۲، ۲/۲۲، ۰/۷ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک) گزارش کرده است.

تجزیه و تحلیل ترکیبات بیوشیمیایی اندام بارده *G. lucidum* در جدول ۲ ارائه شده است. به‌طورکلی، ۳۷ ترکیب شامل تری ترپنوئیدها و ترکیبات فنولی شناسایی شدکه در آن گنودریک اسید با بیشترین مقدار (۲۳۲/۱ ± ۱۵۸۹۰/۱ میکروگرم در گرم ماده خشک) و به‌دنبال آن سیناپیک اسید و سوکونیک اسید (۲۸/۱۱ ± ۲۰۱۱/۴ و ۳۱/۵ ± ۱۵۰۵/۳۳ میکروگرم در گرم ماده خشک) به‌عنوان ترکیبات غالب قرار گرفتند.

طبق مطالعه انجام‌شده توسط توفیق و همکاران (Taofiq et al., 2017) مقدار تری ترپنوئید کل در عصاره *G. lucidum* را ۴۵۵ میلی‌گرم بر گرم گزارش کردند که شامل انواع اسیدهای گنودریک (AM, H, F, G, B, A, D, C2,C6, E, J) بودند.

اگرچه ترکیبات فنولی یکی از مهم‌ترین ترکیبات با اثرات زیست‌فعالی قابل توجه در گانودرما هستند، مطالعات زیادی به‌منظور تعیین محتوای آن‌ها تاکنون انجام شده است. برای ترکیبات فنولی شناخته‌شده در این قارچ از اسید گالیک، پیروگالول، ۵-سولفوسالیسیلیک اسید، پروتوکاتچوئیک اسید، کاتچین، بنزوئیک اسید، میریستین، کورستین، کامفرول، هسپرتین، فورمونونتین و بیوچانین نام برده شده است. کیم و همکاران (Kim et al., 2008) محتوای ترکیبات فنولی در قارچ گانودرما کشت‌شده در کره جنوبی را مطالعه کردند و محتوای ترکیبات فنولی را ۱۶۲ گرم بر کیلوگرم ماده خشک و به‌طور جزئی مقادیر اسید گالیک، پیروگالول، دهیدروکسی بنزوئیک اسید، نارنجین، میرستین، کوئرستین، کمپفرول (۸، ۱۸، ۱۴، ۹، ۲۱، ۲۶، ۲۵ میروگرم بر گرم) را گزارش کردند که با نتایج پژوهش حاضر قابل مقایسه است. تفاوت‌های بارز بین ترکیبات بیوشیمیایی و عناصر غذایی *G. lucidum* در مطالعات انجام‌شده به‌دلیل ژنوم و خواستگاه نمونه‌ها، نوع و ترکیب بستر کشت در شرایط مصنوعی، تغییر در محتوای فنول آزادشده در طول فرآیند خشک کردن یا تشکیل ترکیبات آنتی‌اکسیدانی اضافی مانند ملانوئیدین می‌تواند باشد.

جدول ۱- آنالیز عناصر اندام بارده قارچ گانودرما لوسیدوم توسط دستگاه اسپکترومتری

Table 1- Analysis of elements in the fruiting body of *G. lucidum* by ICP-OES

عناصر Elements	غلظت Concentration ($mg.kg^{-1}$)
فسفر Phosphorus (P)	2910.8
پتاسیم Potassium (K)	1510.8
کلسیم Calcium (Ca)	479.8
منیزیم Magnesium (Mg)	356.5
سدیم Sodium (Na)	65.58
گوگرد Sulfur (S)	15.13
آهن (Fe) Iron	8.5
روی Zinc (Zn)	7.74
مس Copper (Cu)	2.87
منگنز Manganese (Mn)	2.15
بور Boron (B)	1.11
سلنیوم Selenium (Se)	0.63
سیلیسیم Silicon (Si)	0.165
باریم Barium (Ba)	0.065

جدول ۲- آنالیز ترکیبات بیوشیمیایی اندام بارده قارچ گانودرما لوسیدوم با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با عملکرد فوق‌العاده

Table 2- Identification and quantification of biochemical compounds in the fruiting body of *G. lucidum* by UPLC-MS

ترکیبات بیوشیمیایی Biochemical compounds	محتوای ترکیب Compound Content ($\mu g.g^{-1}$)	UPLC ESI-MS	
		زمان بازداری RT (min)	نسبت جرم به بار [M-H] (m/z)
اسید مالیک Malic acid	311.0 ± 46.2	0.94	133.11
اسید کوئینیک Quinic acid	65.2 ± 8.1	0.96	191.1
اسید سوکسینیک Succinic acid	1505.33 ± 31.5	1.21	117.018
اسید گنودریک Ganoderic acid	15890.1 ± 232.1	1.22	191.111
پیروگالول Pyrogallol	4.03 ± 0.80	1.24	125.11
اسید گالیک Gallic acid	19.4 ± 1.8	1.33	168.5
پیروکاتکول Pyrocatechol	<LOD	1.95	109.028
اسید ۳،۴- دی‌هیدروکسی‌بنزوئیک 3-4-Dihydroxybenzoic acid	7.4 ± 1.0	2.01	153.11
کاتچین Catechin	27.2 ± 3.4	2.21	289
اسید کلروژنیک Chlorogenic acid	71.3 ± 5.5	2.37	353.212

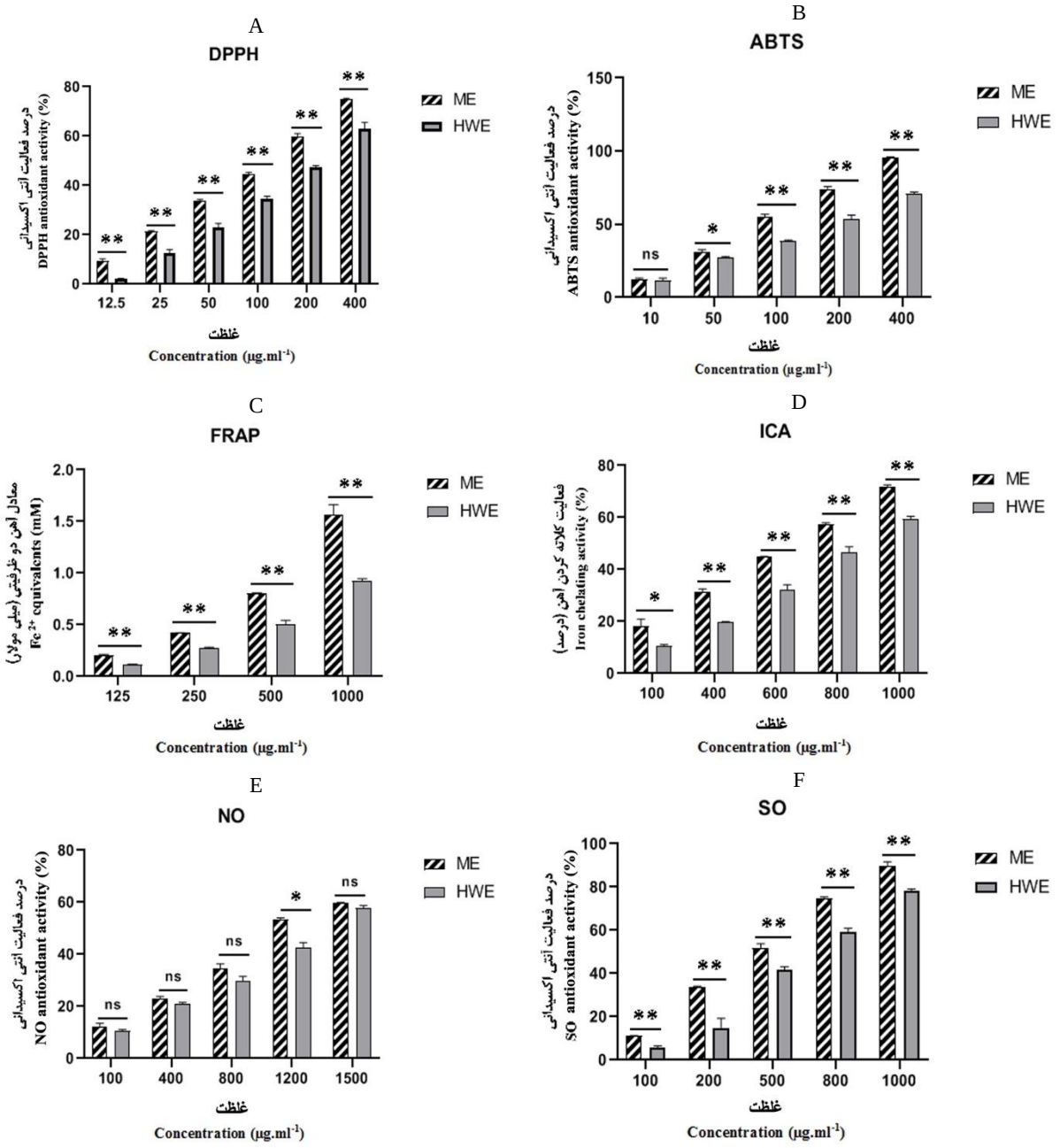
ترکیبات بیوشیمیایی Biochemical compounds	محتوای ترکیب Compound Content (µg.g^{-1})	UPLC ESI-MS	
		زمان بازداری RT (min)	نسبت جرم به بار [M-H] (m/z)
اسید ۴-هیدروکسی‌بنزوئیک 4-hydroxybenzoic acid	92.4 ± 6.0	2.8	137.15
اسید ۳-هیدروکسی‌بنزوئیک 3-Hydroxybenzoic acid	1243 ± 21.4	2.83	137.025
اسکولتین Esculetin	44.0 ± 2.3	3.03	177.018
اسید وانیلیک Vanillic acid	201.33 ± 16.3	3.13	167.036
اسید سیرینگیک Syringic acid	<LOD	3.17	197.045
اسید کافئیک Caffeic acid	52.5 ± 8.12	3.19	179.035
اپی‌کاتچین Epicatechin	<LOD	3.84	289.064
اسید ۴-هیدروکسی‌سینامیک 4-Hydroxycinnamic acid	<LOD	4.54	163.042
اسید ۳-هیدروکسی‌سینامیک 3-Hydroxycinnamic acid	310.0 ± 18.4	4.56	163.042
روتین Rutin	<LOD	4.71	609.1
اسید سیناپیک Sinapic acid	2011.4 ± 28.11	4.88	223.061
اسید فرولیک Ferulic acid	374.2 ± 20.0	5.05	193.05
اسید ۲-هیدروکسی‌سینامیک 2-Hydroxycinnamic acid	<LOQ	5.14	163.042
اسید تانیک Tannic acid	693.11± 15.94	5.31	1700.08
نارینجین Naringin	433.5 ± 11.0	5.84	579.173
اسید بنزوئیک Benzoic acid	3.4± 0.2	5.97	121.031
کوئرسیترین Quercitrin	<LOD	6.02	447.12
هسپریدین Hesperidin	73.12 ± 6.2	6.24	609.172
اسید رزمارینیک Rosmarinic acid	21.0 ± 5.1	6.94	359.054
۴-هیدروکسی‌کومارین 4-Hydroxycoumarin	913.0 ± 86.0	7.04	163.042
اسید سالیسیلیک Salicylic acid	18.90 ± 4.1	7.38	137.025
رزوراترول Resveratrol	<LOD	8.24	227.072
لوتئولین Luteolin	<LOD	8.87	215.04
کوئرستین Quercetin	<LOD	9.11	301.112
نارینژنین Naringenin	3.70 ± 0.2	10.77	271.161
هسپرتین Hesperetin	2.94 ± 0.21	11.04	301.315
کمپفرول Kaempferol	<LOD	11.12	285.24

ترکیبات فنولی شامل فنول‌های ساده، با یک حلقه آروماتیک که حداقل دارای یک گروه هیدروکسی روی آن است و ترکیبات پلی فنولی می‌باشند. ترکیبات پلی فنولی که دارای دو بخش فنولی باشند، فلاونوئیدها را تشکیل می‌دهند. از مهم‌ترین خصوصیاتی که به این گروه نسبت داده می‌شود، خاصیت آنتی‌اکسیدانی بوده که به آن‌ها امکان از دست دادن هیدروژن و به دام انداختن رادیکال آزاد را می‌دهد. در نتیجه، روند استخراج ترکیبات فنولی یک عامل مهم در تعیین خصوصیات آنتی‌اکسیدانی عصاره محسوب می‌شود. دما، حلال، زمان عصاره‌گیری، قدرت استخراج و روش استخراج تأثیر بارزی در محتویات عصاره خواهد گذاشت. این تفاوت‌ها وابسته به تمایل این ترکیبات به حلال مورد نظر برای عصاره‌گیری و به‌خصوص قطبیت آن است .(Sheikh et al., 2014)

به‌طور گسترده مدل به‌دام‌اندازی رادیکال DPPH برای ارزیابی توانایی به دام‌اندازی رادیکال آزاد در نمونه‌های مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد. این رادیکال آزاد پایدار با دریافت هیدروژن یا الکترون از آنتی‌اکسیدان به فرم احیاشده تبدیل شده و رنگ ارغوانی آن کاهش یافته و به زرد کم‌رنگ تغییر می کند. نتایج حاصل از تأثیر قدرت عصاره بر به‌دام‌اندازی رادیکال DPPH در شکل ۱ (A) ارائه شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود در این آزمون با افزایش غلظت هر دو عصاره متانولی و آب داغ، مهار رادیکال DPPH با قدرت بیشتری صورت گرفته و در همه غلظت‌ها اختلاف معنی‌داری ($P \leq 0.01$) بین دو عصاره وجود داشت. همچنین مقدار IC_{50} برای عصاره متانولی (۱/۳۹ ± ۱۱۱/۹۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر) و آب داغ (۵/۴۲ ± ۲۱۳/۴۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر) به دست آمد که در سطح آماری ($P \leq 0.05$) اختلاف نشان دادند. نتایج آنتی‌اکسیدانی به‌دست‌آمده برای مهار و کاهش رادیکال DPPH بسیار مشابه گزارش هلنو و همکاران (Heleno et al., 2012) است که در آن نویسندگان از روش استخراج خیساندن در حلال متانول ۸۰ درصد استفاده کردند. فعالیت مهار DPPH عصاره، علاوه‌بر محتویات پلی‌فنولی به مواد بیوشیمیایی مختلف نیز وابسته است. ازآنجایی‌که مهار رادیکال‌های آزاد از طریق انتقال اتم هیدروژن یا الکترون انجام می‌شود، ممکن است ترکیبات دیگری علاوه‌بر ترکیبات فنولی نیز در مهار رادیکال DPPH نقش داشته باشند. هرچه تعداد گروه‌های هیدروکسیل حلقه فنیل آنتی‌اکسیدان بیشتر باشد، تعداد هیدروژن بیشتری برای واکنش DPPH وجود دارد.

کاتیون رادیکال نسبتاً پایدار سبز آبی ABTS از اکسیداسیون ABTS توسط پتاسیم پرسولفات تولید می‌شود که معمولاً برای تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی با انتقال اتم هیدروژن یا الکترون استفاده می‌شود و به یک محصول بی‌رنگ تبدیل می‌شود. شدت کاهش رنگ نشان‌دهنده مقدار رادیکال ABTS است که توسط آنتی‌اکسیدان‌ها مهار شده است. غلظت‌های مختلف دو عصاره متانولی و آبی و درصد مهارکنندگی رادیکال ABTS در شکل ۱ (B) ارائه شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، قدرت مهارکنندگی رادیکال ABTS برای هر دو عصاره در یک رابطه وابسته به دوز افزایش یافت. ظرفیت مهارکنندگی عصاره‌ها در کمترین غلظت (۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) اختلاف معناداری نشان نداد و در بالاترین غلظت (۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) این اختلاف در سطح احتمال ($P \leq 0.01$) معنادار شد. همچنین مقدار IC_{50} برای عصاره متانولی (۲/۴۲ ± ۴۸/۴۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر) و آب داغ (۴/۵۱ ± ۱۶۳/۵۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر) به دست آمد که در سطح آماری ($P \leq 0.05$) اختلاف نشان دادند. نتایج نشان می‌دهد که پاسخ عصاره متانولی در آزمون ABTS با آزمون DPPH متفاوت بود.

قدرت احیاکنندگی با توانایی ترکیبات در اهدای الکترون برای احیای آهن سه ظرفیتی و تبدیل آن به آهن دو ظرفیتی سنجیده می‌شود. در این واکنش، افزودن معرف FRAP به عصاره مورد نظر منجر به احیای کمپلکس Fe^{3+}-TPTZ و تشکیل کمپلکس Fe^{2+}-TPTZ آبی‌رنگ می‌شود که حداکثر جذب را در طول موج ۵۹۳ نانومتر دارد. افزایش جذب در این طول موج حاکی از افزایش ظرفیت احیاکنندگی می‌باشد. طبق نتایج ارائه‌شده در شکل ۱ (C)، قدرت احیاکنندگی برای هر دو عصاره متانولی و آبی وابسته به دوز افزایش یافت و این افزایش برای عصاره متانولی بیشتر نمایان است. در تمام غلظت‌ها، قدرت احیاکنندگی عصاره‌ها در سطح احتمال ($P \leq 0.01$) اختلاف نشان دادند. همان‌طور که در جدول ۳ ذکر شده است، مقدار IC_{50} برای عصاره متانولی (۴/۰۶ ± ۵۱۲/۶۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر) و برای آب داغ (۷/۸ ± ۸۹۸/۵۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر) به دست آمد که در سطح آماری ($P \leq 0.01$) اختلاف نشان دادند. به لحاظ تئوری، هر ترکیبی که بتواند آهن سه ظرفیتی را به آهن دو ظرفیتی احیا کند، پتانسیل دخالت در سطح آنتی‌اکسیدانی نمونه را دارد. نکته قابل توجه در این روش این است که برخی ترکیبات پلی‌فنولی موجود در عصاره مانند اسید کافئیک، اسید فرولیک و اسید تانیک به‌آهستگی با معرف FRAP واکنش می‌دهند (Pulido et al., 2000). بنابراین قدرت احیاکنندگی ارتباط تنگاتنگی با نوع ترکیبات زیست‌فعال موجود در عصاره دارد. بااین‌وجود قدرت کاهندگی گانودرما تعیین‌شده توسط FRAP، یک شاخص قابل توجه از پتانسیل فعالیت آنتی‌اکسیدانی این قارچ است (Ferreira et al., 2007) .



شکل ۱- ظرفیت مهارکنندگی رادیکال DPPH (A)، ABTS (B)، نیتریک اکساید (E)، سوپراکساید (F)، ظرفیت احیاکنندگی آهن (C)، ظرفیت شلاته‌کنندگی آهن (D) توسط عصاره متانولی (ME) و عصاره آبی (HWE) قارچ گانودرما لوسیدوم

Figure 1. DPPH (A), ABTS (B), nitric oxide (NO) (E), superoxide (SO) (F) inhibitory activities, iron-reducing activity (FRAP) (C), and iron-chelating activity (ICA) (D) of MeOH (ME) and hot water (HWE) extracts of *G. lucidum*

نتایج حاصل از تأثیر عصاره‌ها بر میزان قدرت شلاته‌کنندگی آهن در شکل ۱ (D) ارائه شده است. در این آزمون هم عصاره متانولی بالاترین فعالیت خود را نشان داد، به‌طوری که در تمام غلظت‌های مشابه در سطح آماری ($P \leq 0.01$) نسبت به عصاره آبی قدرت شلاته‌کنندگی بیشتری را از خود نشان داد. میزان IC_{50} در این آزمون برای عصاره متانولی (7/01 ± 301/88 میکروگرم بر میلی‌لیتر) و برای عصاره آبی (1/21 ± 545/23 میکروگرم بر میلی‌لیتر) محاسبه شد که در سطح آماری ($P \leq 0.01$) اختلاف داشتند.

نیتریک اکساید، مولکول کوچکی با یک الکترون جفت نشده است که در سیستم‌های زیستی توسط آنزیم نیتریک اکساید سنتتاز (NOS)

و از طریق تبدیل آرژینین به سیترولین تولید می‌شود. تولید بیش از حد این مولکول می‌تواند فعالیت برخی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند گلوتاتیون پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز را کاهش دهد. قدرت به‌دام‌اندازی رادیکال نیتریک اکساید عصاره‌ها وابسته به دوز بود. همان‌طور که در شکل ۱ (E) نشان داده شده است، هم‌زمان با افزایش غلظت عصاره‌ها، قدرت مهارکنندگی رادیکال نیتریک اکساید نیز افزایش یافت. مطابق نتایج آماری، در غلظت‌های یکسان قدرت مهارکنندگی عصاره متانولی اندکی بیشتر از عصاره آبی بود، به‌طوری که این تفاوت تنها در غلظت ۱۲۰۰میکروگرم بر میلی‌لیتر در سطح آماری ($P \leq 0.01$) معنی‌دار شد. همان‌طور که در جدول ۳ ذکر شده است، مقدار IC_{50} برای عصاره متانولی (۸/۵ ± ۱۱۸۹/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) و آب داغ (۱۰/۶ ± ۱۳۴۳/۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر) به دست آمد که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری نشان ندادند.

رادیکال سوپراکساید یکی از گونه‌های فعال اکسیژن است که در شرایط اکسیداتیو می‌تواند موجب آسیب‌های سلولی شود. نتایج حاصل از تأثیر عصاره‌ها بر میزان قدرت مهارکنندگی رادیکال سوپراکساید در شکل ۱ (F) ارائه شده است. در این آزمون نیز در تمام غلظت‌های یکسان، عصاره متانولی بالاترین فعالیت مهارکنندگی را نسبت به عصاره آبی در سطح آماری ($P \leq 0.01$) از خود نشان داد. همچنان که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، مقدار IC_{50} برای عصاره متانولی (۷/۳۸ ± ۴۸۸/۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر) و آب داغ (۵/۴۸ ± ۶۴۵/۹۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر) به دست آمد که در سطح آماری ($P \leq 0.01$) اختلاف نشان دادند.

جدول ۳- غلظت مؤثر بازدارندگی عصاره‌های قارچ گانودرما لوسیدوم در شش آزمون فعالیت آنتی‌اکسیدانی

Table 3- IC_{50} values of *G. lucidum* Extracts by six antioxidant activity assays

آزمون Assay	غلظت مؤثر بازدارندگی IC_{50} ($\mu g.ml^{-1}$)		P-value
	عصاره متانولی Methanolic extract	عصاره آب داغ Hot water extract	
آزمون مهار رادیکال ABTS ABTS assay	48.46 ± 2.42	163.51 ± 4.51	0.0155*
آزمون مهار رادیکال DPPH DPPH assay	111.93 ± 1.39	213.48 ± 5.42	0.0433*
آزمون قدرت آنتی‌اکسیدانی احیاکنندگی آهن (FRAP) Ferric reducing antioxidant power assay (FRAP)	512.64 ± 4.06	898.51 ± 7.8	<0.01**
آزمون قدرت کلاته‌کنندگی یون آهن (ICA) Iron chelating activity assay (ICA)	301.88 ± 7.01	545.23 ± 1.21	<0.01**
آزمون مهار رادیکال نیتریک اکسید (NO) Nitric oxide scavenging assay (NO)	1189.5 ± 8.5	1343.2 ± 10.6	0.0901ns
آزمون مهار رادیکال سوپراکسید (SO) Superoxide radical scavenging assay (SO)	488.8 ± 7.38	645.92 ± 5.48	<0.01**

عصاره‌های گیاهی مختلف ممکن است شامل انواع مختلف ترکیبات فنولی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی متنوع باشند که به ساختارشان وابسته است (Kaur & Mondal, 2014). بااین‌وجود گولیسین و همکارانش (Gülçın et al., 2003) گزارش کردند که بین میزان ترکیبات فنلی و اثر آنتی اکسیدانی عصاره گیاهی ارتباط مستقیمی وجود ندارد، به‌طوری که میزان فنول عصاره اتانولی بیشتر از عصاره آبی بوده، ولی اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی نسبت به آبی کمتر می‌باشد. در مطالعه‌ای دیگر، که روی ۲۸ محصول گیاهی انجام شد، مشخص گردید که در بسیاری از موارد، بین میزان فنول و بالا بودن فعالیت آنتی‌اکسیدانی همبستگی وجود ندارد. در دلیل این امر بیان شده که احتمالاً عوامل دیگری در فعالیت آنتی‌اکسیدانی نقش دارند (Sengul et al., 2009; Velioglu et al., 1998). تحقیقات متعددی رابطه نزدیک بین میزان ترکیبات فنولی، تری ترپنوئیدها و پلی ساکاریدهای موجود در اندام بارده گانودرما با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آن را گزارش کردند (Abdullah et al., 2012; Kozarski et al., 2011; Zhang et al., 2015). همچنین مجموع تری ترپن‌های جداشده از *G. lucidum* طی تحقیقی برای سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در محیط درون شیشه‌ای و برون شیشه‌ای مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که تری ترپن‌ها به‌طور موفق رادیکال‌های سوپراکسید، DPPH و ABTS را مهار کرده و به‌طور قابل توجهی فعالیت کاهندگی یون فریک از خود نشان دادند و به‌مقدار زیادی در کاهش پراکسیداسیون لیپیدها مؤثر بودند. این توانایی تری‌ترپن‌ها در مهار رادیکال‌های آزاد و تقویت سامانه دفاعی آنتی‌اکسیدانی، نشان‌دهنده ظرفیت

آنتی‌اکسیدانی آن‌هاست. میزان سمیت تری ترپن‌های این قارچ در موش Swiss albino مورد سنجش واقع شده است و نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که این تری ترپن‌ها سمیتی از خود نشان نمی‌دهند. بنابراین، این یافته‌ها نشان‌دهنده پتانسیل کاربرد غذایی- درمانی تری‌ترپن‌های گانودرما است(Smina et al., 2011).

نتیجه‌گیری

با توجه به کاربردهای درمانی گسترده این قارچ و پیشرفت‌های چشمگیر در درمان بیماری‌ها، محققان نه‌تنها در کشورهای آسیایی بلکه در سایر نقاط جهان، تحقیقات وسیعی را جهت جداسازی و شناسایی ترکیبات مؤثر و پی بردن به سازوکار عمل مواد مؤثره ترکیبات آغاز نموده‌اند. آزمایش‌های درون شیشه‌ای و برون شیشه‌ای نشان داده‌اند که گانودرما دارای ترکیبات فنولی، تری‌ترپنوئیدی و پلی‌ساکاریدی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی است. علاوه‌بر ترکیبات زیست‌فعال، عناصر غذایی موجود در گانودرما، پتانسیل آن را برای استفاده در تولید مکمل‌های غذایی از جمله قرص‌ها و کپسول‌ها نشان می‌دهد.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله مراتب سپاس و قدردانی خود را از سرکار خانم دکتر سیده فائزه تقی زاده به‌دلیل همکاری و مساعدت ارزشمند ایشان در هماهنگی و فراهم‌سازی امکان انجام آنالیز عناصر و ترکیبات بیوشیمیایی این پژوهش اعلام می داریم.

References

1. Abdullah, N., Ismail, S. M., Aminudin, N., Shuib, A. S., & Lau, B. F. (2012). Evaluation of selected culinary-medicinal mushrooms for antioxidant and ACE inhibitory activities. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, *2012*(1), 464238. https://doi.org/10.1155/2012/464238
2. Agustin‐Salazar, S., Medina‐Juárez, L. A., Soto‐Valdez, H., Manzanares‐López, F., & Gámez‐Meza, N. (2014). Influence of the solvent system on the composition of phenolic substances and antioxidant capacity of extracts of grape (*Vitis vinifera* L.) marc. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, *20*(2), 208-213. https://doi.org/10.1111/ajgw.12063
3. Balakrishnan, N., Panda, A. B., Raj, N. R., Shrivastava, A., & Prathani, R. (2009). The evaluation of nitric oxide scavenging activity of *Acalypha indica* Linn root. *Asian Journal of Research in Chemistry*, *2*(2), 148-150.
4. Beyer-Jr, W. F., & Fridovich, I. (1987). Assaying for superoxide dismutase activity: Some large consequences of minor changes in conditions. *Analytical Biochemistry*, *161*(2), 559-566. https://doi.org/10.1016/0003-2697(87)90489-1
5. Bishop, K. S., Kao, C. H., Xu, Y., Glucina, M. P., Paterson, R. R. M., & Ferguson, L. R. (2015). From 2000 years of *Ganoderma lucidum* to recent developments in nutraceuticals. *Phytochemistry*, *114*, 56-65. https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2015.02.015
6. Ćilerdžić, J., Vukojević, J., Stajić, M., Stanojković, T., & Glamočlija, J. (2014). Biological activity of *Ganoderma lucidum* basidiocarps cultivated on alternative and commercial substrate. *Journal of Ethnopharmacology*, *155*(1), 312-319. https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.05.036
7. Collins, A. R. (2005). Antioxidant intervention as a route to cancer prevention. *European Journal of Cancer*, *41*(13): 1923-1930. https://doi.org/10.1016/j.ejca.2005.06.004
8. Dong, Q., He, D., Ni, X., Zhou, H., & Yang, H. (2019). Comparative study on phenolic compounds, triterpenoids, and antioxidant activity of *Ganoderma lucidum* affected by different drying methods. *Journal of Food Measurement and Characterization*, *13*(4), 3198-3205. https://doi.org/10.1007/s11694-019-00242-0
9. El Sheikha, A. F. (2022). Nutritional profile and health benefits of *Ganoderma lucidum* "Lingzhi, Reishi, or Mannentake" as functional foods: Current scenario and future perspectives. *Foods*, *11*(7), 10-30. https://doi.org/10.3390/foods11071030
10. Ferreira, I. C., Baptista, P., Vilas-Boas, M., & Barros, L. (2007). Free-radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast Portugal: Individual cap and stipe activity. *Food Chemistry*, *100*(4), 1511-1516. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.11.043
11. Gülçın, İ., Oktay, M., Kıreçcı, E., & Küfrevıoğlu, Ö. İ. (2003). Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. *Food Chemistry*, *83*(3), 371-382. https://doi.org/10.1016/s0308-8146(03)00098-0
12. Halliwell, B. (2007). Biochemistry of oxidative stress. *Biochemical Society Transactions*, *35*(5), 1147-1150. https://doi.org/10.1042/bst0351147
13. Hattori, M. (2001). Recent studies on the bitter principles of *Ganoderma lucidum* isolation of novel triterpenes, their biological activity and pharmacokinetics. In Proceedings of the International Symposium Ganoderma Sciences. April 2001.

14. Heleno, S. A., Barros, L., Martins, A., Queiroz, M. J. R., Santos-Buelga, C., & Ferreira, I. C. (2012). Fruiting body, spores and in vitro produced mycelium of *Ganoderma lucidum* from Northeast Portugal: A comparative study of the antioxidant potential of phenolic and polysaccharidic extracts. *Food Research International, 46(*1), 135-140. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.12.009
15. Hogan, S., Chung, H., Zhang L., Li, J., Lee, Y., Dai, Y., & Zhou, K. (2010). Antiproliferative and antioxidant properties of anthocyanin-rich extract from açai. *Food Chemistry, 118*(2), 208-214. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.04.099
16. Karaman, M., Jovin, E., Malbaša, R., Matavuly, M., & Popović, M. (2010). Medicinal and edible lignicolous fungi as natural sources of antioxidative and antibacterial agents. *Phytotherapy Research, 24*(10), 1473-1481. https://doi.org/10.1002/ptr.2969
17. Kaur, S., & Mondal, P. (2014). Study of total phenolic and flavonoid content, antioxidant activity and antimicrobial properties of medicinal plants. *Journal of Microbiology & Experimentation, 1*(1), 00005. https://doi.org/10.15406/jmen.2014.01.00005
18. Kim, M. Y., Seguin, P., Ahn, J. K., Kim, J. J., Chun, S. C., Kim, E. H., Seo, S. H., Kang, E. Y., Kim, S. L., Park, Y. J., & Ro, H. M. (2008). Phenolic compound concentration and antioxidant activities of edible and medicinal mushrooms from Korea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *56*(16), 7265-7270. https://doi.org/10.1021/jf8008553
19. Kozarski, M., Klaus, A., Nikšić, M., Vrvić, M. M., Todorović, N., Jakovljević, D., & Van Griensven, L. J. (2012). Antioxidative activities and chemical characterization of polysaccharide extracts from the widely used mushrooms *Ganoderma applanatum*, *Ganoderma lucidum*, *Lentinus edodes* and *Trametes versicolor*. *Journal of Food Composition and Analysis*, *26*(1-2), 144-153. https://doi.org/10.1016/j.jfca.2012.02.004
20. Kozarski, M., Klaus, A., Niksic, M., Jakovljevic, D., Helsper, J. P., & Van Griensven, L. J. (2011). Antioxidative and immunomodulating activities of polysaccharide extracts of the medicinal mushrooms *Agaricus bisporus*, *Agaricus brasiliensis*, *Ganoderma lucidum* and *Phellinus linteus*. *Food Chemistry*, *129*(4), 1667-1675. http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.06.029
21. Li, J., Zhang, J., Chen, H., Chen, X., Lan, J., & Liu, C. (2013). Complete mitochondrial genome of the medicinal mushroom *Ganoderma lucidum*. *Plos One*, *8*(8), e72038. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0072038
22. Li, Y. B., Liu, R. M., & Zhong, J. J. (2013). A new ganoderic acid from *Ganoderma lucidum* mycelia and its stability. *Fitoterapia*, *84*, 115-122. https://doi.org/10.1016/j.fitote.2012.11.008
23. Lin, S. B., Li, C. H., Lee, S. S., & Kan, L. S. (2003). Triterpene-enriched extracts from *Ganoderma lucidum* inhibit growth of hepatoma cells via suppressing protein kinase C, activating mitogen-activated protein kinases and G2-phase cell cycle arrest. *Life Sciences*, *72*(21), 2381-2390. https://doi.org/10.1016/s0024-3205(03)00124-3
24. Lo, K. M., & Cheung, P. C. (2005). Antioxidant activity of extracts from the fruiting bodies of *Agrocybe aegerita var. alba*. *Food Chemistry*, *89*(4), 533-539. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.03.006
25. Maqsood, S., & Benjakul, S. (2010). Comparative studies of four different phenolic compounds on *in vitro* antioxidative activity and the preventive effect on lipid oxidation of fish oil emulsion and fish mince. *Food Chemistry*, *119*(1), 123-132. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.06.004
26. Mohsin, M., Negi, P. S., & Ahmed, Z. (2011). Determination of the antioxidant activity and polyphenol contents of wild Lingzhi or Reishi medicinal mushroom, *Ganoderma lucidum* (W. Curt. Fr.) P. Karst.(higher Basidiomycetes) from central Himalayan hills of India. *International Journal of Medicinal Mushrooms, 13*(6), 535-544. https://doi.org/10.1615/intjmedmushr.v13.i6.50
27. Oludemi, T., Barros, L., Prieto, M. A., Heleno, S. A., Barreiro, M. F., & Ferreira, I. C. (2018). Extraction of triterpenoids and phenolic compounds from *Ganoderma lucidum*: optimization study using the response surface methodology. *Food & Function 9*(1), 209-226. https://doi.org/10.1039/c7fo01601h
28. Pulido, R., Bravo, L., & Saura-Calixto, F. (2000). Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *48*(8), 3396-3402. https://doi.org/10.1021/jf9913458
29. Qin, N. B., Jia, C. C., Xu, J., Li, D. H., Xu, F. X., Bai, J., Li, Z. L., & Hua, H. M. (2017). New amides from seeds of *Silybum marianum* with potential antioxidant and antidiabetic activities. *Fitoterapia*, *119*, 83-89. https://doi.org/10.1016/j.fitote.2017.04.008
30. Rawat, A., Mohsin, M., & Singh, S. (2011). Evaluation of polyphenolic contents and antioxidant activity of wildly collected *Ganoderma lucidum* from central Himalayan hills of India. *Asian Journal of Plant Science & Research*, *3*, 85–90.
31. Saltarelli, R., Ceccaroli, P., Buffalini, M., Vallorani, L., Casadei, L., Zambonelli, A., Iotti, M., Badalyan, S., & Stocchi, V. (2015). Biochemical characterization and antioxidant and antiproliferative activities of different *Ganoderma* collections. *Microbial Physiology*, *25*(1), 16-25. https://doi.org/10.1159/000369212

32. Sengul, M., Yildiz, H., Gungor, N., Cetin, B., Eser, Z., & Ercisli, S. (2009). Total phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of some medicinal plants. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, *22*(1), 102-106.
33. Sheikh, I. A., Vyas, D., Ganaie, M. A., Dehariya, K., & Singh, V. (2014). HPLC determination of phenolics and free radical scavenging activity of ethanolic extracts of two polypore mushrooms. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, *6*(2), 679-684.
34. Singh, P. P., Chandra, A., Mahdi, F., Roy, A., & Sharma, P. (2010). Reconvene and reconnect the antioxidant hypothesis in human health and disease. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, *25*(3), 225-243. https://doi.org/10.1007/s12291-010-0078-y
35. Smina, T. P., Mathew, J., Janardhanan, K. K., & Devasagayam, T. P. A. (2011). Antioxidant activity and toxicity profile of total triterpenes isolated from *Ganoderma lucidum* (Fr.) P. Karst occurring in South India. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, *32*(3), 438–446. https://doi.org/10.1016/j.etap.2011.08.011
36. Soković, M., Glamočlija, J., Ćirić, A., Petrović, J., & Stojković, D. (2018). Mushrooms as sources of therapeutic foods. *Therapeutic Foods*, 141-178. https://doi.org/10.1016/b978-0-12-811517-6.00005-2
37. Stamets, P. (2011). Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms. Berkley, CA, USA: Ten Speed Press, 614 pp.
38. Stojković, D. S., Barros, L., Calhelha, R. C., Glamočlija, J., Ćirić, A., Van Griensven L. J., Soković, M., & Ferreira, I. C. (2014). A detailed comparative study between chemical and bioactive properties of *Ganoderma lucidum* from different origins. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, *65*(1), 42-47. https://doi.org/10.3109/09637486.2013.832173
39. Taofiq, O., Heleno, S. A., Calhelha, R. C., Alves, M. J., Barros, L., González-Paramás, A. M., Barreiro, M. F., & Ferreira, I. C. (2017). The potential of *Ganoderma lucidum* extracts as bioactive ingredients in topical formulations, beyond its nutritional benefits. *Food and Chemical Toxicology*, *108*, 139-147. https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.07.051
40. Terpinc, P., Polak, T., Šegatin, N., Hanzlowsky, A., Ulrih, N. P., & Abramovič, H. (2011). Antioxidant properties of 4-vinyl derivatives of hydroxycinnamic acids. *Food Chemistry*, *128*(1), 62-69. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.02.077
41. Velioglu, Y., Mazza, G., Gao, L., & Oomah, B. D. (1998). Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *46*(10), 4113-4117. https://doi.org/10.1021/jf9801973
42. Wachtel-Galor, S., Yuen, J., Buswell, J. A., & Benzie, I. F. (2011). *Ganoderma lucidum* (Lingzhi or Reishi): A Medicinal Mushroom. Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical Aspects. 2nd edition. Boca Raton, FL, USA: CRC Press/Taylor & Francis, pp. 175-199.
43. Zhang, N., Chen, H., Zhang, Y., Xing, L., Li, S., Wang, X., & Sun, Z. (2015). Chemical composition and antioxidant properties of five edible Hymenomycetes mushrooms. *International Journal of Food Science & Technology*, *50*(2), 465-471. https://doi.org/10.1111/ijfs.12642
44. Zhou, X., Li, Q., Zhao, J., Tang, K., Lin, J., & Yin, Y. (2007). Comparison of rapid DNA extraction methods applied to PCR identification of medicinal mushroom *Ganoderma* spp. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, *37(*4), 369-380. https://doi.org/10.1080/10826060701593282

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

Research Article
Vol. 40, No. 3, Fall 2026, p. 383-399

The Effect of Color and Shading Rate of Net Shade on Quantitative and Qualitative Characteristics of 'Rabab' Pomegranate (*Punica granatum* L.) Fruit

A. Bonyanpour[1*], F. Esfandiari Bayat[2]

1- Crop and Horticulture Science Research Department, Fars Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Shiraz, Iran
2- Horticultural Science Research Department, Faculty of Agriculture, Shiraz University. Shiraz, Iran
(*- Corresponding author's Email: arbonyanpour@yahoo.com)

Received: 10 January 2025
Revised: 23 March 2026
Accepted: 11 April 2026
Available Online: 11 April 2026

How to cite this article:
Bonyanpour, A., & Esfandiari Bayat, F. (2026). The effect of color and shading rate of net shade on quantitative and qualitative characteristics of 'Rubab'pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit. *Journal of Horticultural Science*, *40*(3), 383-399. (In Persian). https://doi.org/10.22067/jhs.2026.91589.1405

Introduction

Pomegranate, *Punica granatum* L., is a subtropical fruit that is cultivated in various regions of Iran. Fars province, with about 27,000 hectares of pomegranate orchards, is the most important pomegranate planting and production area in Iran. In recent years, as a result of climate change and warming, pomegranate orchards in most regions have suffered from heat and drought stresses, which has affected the quantitative and qualitative characteristics of the fruit and has reduced the quality and marketability of the fruits produced. Using net shading is one way to reduce the impact of climate change. By reducing the intensity of sunlight and reducing the temperature around the plant, suitable conditions are provided for the growth and development of the tree and reduces the destructive effects of environmental stresses. The color and shading of net shade are also important. Because the color and shading percentage of the canopy affect the physiological activities of the plant.

Materials and Methods

This research was conducted during 2019-2020 for 2 years in a private orchard in the Kohmar area of Kazeron city of Iran. 'Rabab' pomegranate trees that were planted at a distance of 5 × 5 meter with 15 years old were used. In this research, the effect of different types of net shading was investigated. The experiment was conducted in a randomized complete block design with 9 treatments and three replications in two years. The experimental treatments included the use of net shading in white and green colors with two different shading percentage (30% and 50%) and two implementation methods (on the base and on the canopy of the tree) which were compared with control trees (without cover). During the growing season, measurements were made in relation to aril weight, pill weight, fruit weight, aril color, TSS, fruit juice content, anthocyanin content, ascorbic acid content and phenol content in all treatments.

Results and Discussions

The use of shading improved the physical and chemical properties of the 'Rabab' pomegranate fruit. The highest fresh weight of the aril was obtained in the 50% green shade treatment without a base, the highest dry weight of the aril was obtained in the 50% green shade treatment with a base, the most suitable aril color was obtained in the 50% white shade treatment with a base, and the highest weight of fruit was obtained in the 50% green shade with a base. However, in all shading treatments, the percentage of fruit juice was superior to the control. Regarding the biochemical characteristics of the fruit juice, the results also showed the appropriate effect of the use of the shading, so that in most shading treatments, the amount of anthocyanin accumulation in the fruit juice, which had a direct effect on the color of the aril and pomegranate juice, increased compared to the control

Authors retain the copyright. This is an open access article distributed under Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0).
https://doi.org/10.22067/jhs.2026.91589.1405

and showed a significant difference. The amount of ascorbic acid was also affected by the use of the shading and its amount in the fruit juice increased, so that in the 50% white shading without a base, the highest amount of ascorbic acid was observed, which showed a significant difference from the control. By improving the environmental conditions around the plant, shading reduces the destructive effects of heat and drought stresses and can improve the quantitative and qualitative characteristics of pomegranate fruit.

Conclusion

Net shads, by improving the environmental conditions around the plant and reducing the intensity of sunlight and temperature, reduces the rate of evaporation and transpiration from the plant and provides the plant with greater access to water and nutrients. It also reduces the impact of heat and light stresses, making more nutrients available for fruit growth and development, thereby improving the quantitative and qualitative characteristics of pomegranate fruit. Using a shade net with 50 percent shading in green or white gave the best results and improved most of the quantitative and qualitative characteristics of 'Rabab' pomegranate fruit.

Keyword:Ascorbic acid, Anthocyanin, Fruit color, Fruit weight

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

مقاله پژوهشی

جلد ۴۰، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۵، ص. ۳۹۹-۳۸۳

تأثیر سایه‌دهی و رنگ سایبان بر ویژگی‌های کمّی و کیفی میوه انار (*Punica granatum* L.) رقم 'رباب'

علی رضا بنیان پور[1*] - فاطمه اسفندیاری بیات[2]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۰/۲۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۱/۲۲

چکیده

انار (*Punica granatum* L.) میوه ای نیمه‌گرمسیری است که در مناطق مختلف استان فارس کشت می‌گردد. استان فارس با دارا بودن ۲۷ هزار هکتار سطح زیرکشت انار، مهم‌ترین منطقه کاشت و تولید انار در ایران می‌باشد. تغییرات اقلیمی و گرم شدن آب‌وهوا همراه با کاهش نزولات جوی در سال‌های اخیر باعث گردیده که درختان انار در اکثر مناطق انارکاری دچار تنش‌های گرمایی و خشکی شده که این امر روی خصوصیات کمّی و کیفی میوه تأثیر گذاشته و باعث کاهش کیفیت و بازارپسندی میوه‌های تولید در باغات شده است. استفاده از سایبان یکی از راهکارهایی است که جهت کاهش تأثیر تنش‌های محیطی و بهبود شرایط پیرامون درخت پیشنهاد می‌گردد. ازآنجایی‌که رنگ و میزان سایه‌دهی (تراکم) سایبان یکی از عوامل تأثیرگزار در انتخاب سایه‌بان بوده و روی کمیت و کیفیت میوه تولیدشده نیز تأثیرگزار است، بنابراین در این پژوهش، تأثیر استفاده از انواع مختلف سایبان روی ویژگی‌های کمّی و کیفی میوه انار رقم 'رباب' بررسی گردید. این پژوهش در قالب طرح آماری بلوک‌های کامل تصادفی با نُه تیمار و سه تکرار در دو سال اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل استفاده از سایبان به رنگ‌های سفید و سبز با دو میزان سایه‌دهی متفاوت (۳۰ و ۵۰ درصد) و دو روش اجرا (روی داربست و روی تاج درخت) بود که با درختان شاهد (بدون پوشش) مقایسه شدند. نتایج نشان داد که استفاده از سایبان باعث بهبود ویژگی‌های مختلف میوه انار رقم 'رباب' گردید. استفاده از سایبان سفید و سبز با تراکم ۵۰ درصد همراه با استفاده از داربست بهترین نتایج را به همراه داشت، به‌طوری که بیشترین وزن تر ۱۰۰عدد دانه (۴۶/۷۴ گرم) ، وزن خشک ۱۰۰ دانه (۱۰/۰۲ گرم) ، رنگ دانه (۴/۵۴)، وزن میوه (۴۱۴ گرم)، غلظت اسید آسکوربیک (۰/۲۶ میلی گرم درگرم آب میوه) و آنتوسیانین آب میوه (۰/۴۶۶ میلی گرم در گرم آب میوه) در این دو تیمار مشاهده شد. به‌طورکلی، استفاده از سایبان سفید یا سبز با تراکم حداقل ۵۰ درصد روی داربست می‌تواند باعث بهبود خصوصیات کمّی و کیفی میوه تولید شده گردیده و تأثیرات افزایش دمای محیط و خشکی را به نحو محسوسی کاهش دهد.

واژه‌های کلیدی: اسید آسکوربیک، آنتوسیانین، رنگ میوه، وزن میوه

مقدمه

انار (*Punica granatum* L.) یکی از مهم‌ترین محصولات باغبانی استان فارس می‌باشد. استان فارس با دارا بودن حدود ۲۷ هزار هکتار باغ انار، مقام اول را از لحاظ سطح زیرکشت و تولید انار در کشور دارا می‌باشد (Iran Agriculture Statics, 2023). بیشتر مناطق انارکاری در استان فارس، مناطق نیمه‌گرمسیری است. باغات کشت‌شده در این مناطق در سال‌های اخیر به‌علت شدت بالای نور خورشید، دمای بالا و تبخیر زیاد با تنش‌های مختلف محیطی روبه‌رو گردیده که این امر باعث کاهش کمیت و کیفیت میوه این باغات شده است، به‌طوری که که علاوه‌بر کاهش میزان محصول مشکلاتی مانند کوچک شدن میوه، کم‌آبی، ریزش گل و میوه و دانه سفیدی در این باغات به‌وفور دیده می‌شود. استفاده از سایبان در چند سال اخیر در مناطق مختلف کشور و از جمله استان فارس در باغات رواج یافته است. سایبان با ایجاد سایه روی تاج درخت و کاهش تأثیر شدت بالای نور خورشید می‌تواند محیط مناسب‌تری را جهت رشد و نمو درخت و میوه مهیا نماید و از طرف دیگر، ایجاد سایه باعث کاهش میزان تبخیر از درخت و خاک شده و میزان و شدت تنش‌های گرمایی

۱- بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی فارس، سازمان تحقیقات و آموزش کشاورزی. شیراز ، ایران
۲- بخش تحقیقات علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز، شیراز، ایران
(*- نویسنده مسئول: (Email: arbonyanpour@yahoo.com
https://doi.org/10.22067/jhs.2026.91589.1405

را در باغ کاهش می‌دهد. پژوهش‌های صورت‌گرفته در رابطه با تأثیر شدت نور بالای خورشید روی درخت انار نشان‌دهنده تأثیر مثبت کاربرد سایبان در باغات بوده است. در این رابطه، یازیسی و همکاران (Yazici et al., 2005) نشان دادند که گرمای نور خورشید باعث ایجاد دانه‌هایی کم‌آب و سفیدرنگ در زیر بخش آفتاب‌سوخته میوه انار شده و منجر به کاهش کمیت و کیفیت میوه جهت مصرف و یا فرآوری می‌گردد. به‌طورکلی در باغات انار، هنگامی که دمای سطح میوه به بالای ۴۰ درجه سانتی‌گراد برسد باعث آسیب به میوه می‌گردد که در این حالت تا حدود ۴۰ تا ۵۰ درصد خسارت گزارش شده است (Yazici & Kaynak, 2009). آسیب‌های وارده به میوه درختان در اثر عوامل محیطی به‌طور عمده شامل آسیب‌های ناشی از شدت نور و دمای بالا است که بیشتر به‌علت نور مرئی و نامرئی خورشید اتفاق می‌افتد (Glenn et al., 2008). اثرات مضر ناشی از اشعه ماوراء بنفش بر درختان میوه بیشتر ناشی از تأثیر مخرب نور بر سیستم انتقال الکترون در سیستم فتوسنتز II می‌باشد که باعث افزایش میزان گونه‌های اکسیژن فعال و کاهش انتقال الکترون در گیاه می‌شود (White & Jahnke, 2002). آسیب‌های اولیه تنش گرمایی و نوری در انار شامل تغییر رنگ یا سوختگی سطحی میوه است که در حالت شدید، پوست میوه از قهوه‌ای به سیاه تغییر رنگ داده و باعث کاهش محتوای آب وخشکی اریل‌ها (دانه میوه انار) می‌شود (Yazici & Kaynak, 2009). استفاده از پوشش سایبان، یکی از راهکارهایی است که می‌تواند باعث بهبود کیفیت میوه انار شود. در این رابطه، گزارش گردیده که استفاده از پوشش سایبان سبز ۵۰ درصد باعث افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها، آنتوسیانین و ترکیبات فنولی میوه انار رقم قجاق در مقایسه با شاهد گردید (Moradi et al., 2022). استفاده از پوشش سایبان سفید با سایه‌دهی ۵۰ درصد باعث حفظ کمیت و کیفیت میوه انار رقم ملس ساوه شد (Narjesi, 2021). رنگ پوشش به‌کاربرده‌شده نیز می‌تواند در راندمان استفاده از سایبان و کمیت و کیفیت میوه مؤثر باشد. در پژوهشی که در کشور هند انجام شد، کاربرد رنگ‌های مختلف پوشش سایبان و تأثیر آن بر کمیت و کیفیت میوه انار بررسی گردید. نتایج نشان داد که استفاده از پوشش سایبان سیاه در مقایسه با سایبان سبز و قرمز نتایج بهتری داشته و باعث قرمزتر شدن رنگ دانه و پوست میوه و افزایش حدود ۲۰ درصدی میزان آب میوه در مقایسه با شاهد شد (Kale et al., 2018). عوامل محیطی به‌ویژه کمیت و کیفیت نور، سطح تاج‌پوشش، درجه حرارت خاک و رطوبت نسبی تحت تأثیر سایبان قرار می‌گیرند (Tinyane Blakey et al., et al., 2018; Zhou et al., 2018; 2016). سایبان‌ها می‌تواند باعث کاهش دمای سطح برگ و میزان تبخیر و تعرق شده و در نتیجه افزایش فتوسنتز و میزان سنتز کربوهیدرات افزایش یافته و باعث افزایش راندمان مصرف آب و افزایش کیفیت محصول گردد (Shahak, 2008). استفاده از پوشش سایبان می‌تواند باعث کاهش شدت تابش نور وارده به تاج درختان شده که این امر باعث کاهش دمای سطح برگ و در نتیجه کاهش تنش کم‌آبی و گرمایی و کاهش سطح تبخیر و تعرق در درختان می‌گردد. این عوامل باعث افزایش میزان فتوسنتز، افزایش عملکرد، اندازه میوه و افزایش دوره برداشت می‌شود (Amarante et al., 2010; Treder et al., 2016). در این پژوهش، تأثیر کاربرد رنگ و میزان سایه‌دهی پوشش‌های سایبان بر بهبود ویژگی‌های کمّی و کیفی میوه انار رقم 'رباب' بررسی خواهد شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در شهرستان کوه چنار در استان فارس طی سال‌های ۱۳۹۹ و ۱۴۰۰ به مدت دو سال در یک باغ خصوصی که دارای درختان انار رقم 'رباب' ۱۵ ساله بودند، اجرا شد. شهرستان کوه چنار در غرب استان فارس قرار داشته، دارای حدود ۱۰۰۰ متر ارتفاع از سطح دریا می‌باشد و دارای آب‌وهوای نیمه‌گرمسیری است (خصوصیات آب‌وهوایی محل آزمایش در جدول ۱ ارائه شده است). خاک باغ تحت آزمایش با دارا بودن ۴۴ درصد شن، ۴۰ درصد سیلت و ۱۶ درصد رس دارای بافت لومی (Loam) می‌باشد و شوری آب و خاک به‌ترتیب ۱/۳۱ و ۰/۵۵ دسی‌زیمنس بر مترمربع بود.

درختان این باغ به‌وسیله سیستم آبیاری قطره‌ای آبیاری شد، علاوه‌بر این درختان به‌فاصله پنج در پنج متر کاشته شده و در سن باردهی کامل اقتصادی بودند. این آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. هر پلات آزمایشی شامل دو درخت بود و به عبارت دیگر، در هر تکرار جهت هر تیمار دو عدد درخت انتخاب شد. تیمارها به دو صورت پوشش کامل درخت با انداختن سایبان روی تاج درخت و یا سایه‌دهی در بالای سطح تاج درخت با نصب داربست به ارتفاع چهار متر انجام گردید. سایبان‌ها به دو رنگ سبز و سفید بودند و با سایه‌دهی ۳۰ و ۵۰ درصد انتخاب شدند که در نهایت نُه تیمار جهت اجرای آزمایش در نظر گرفته شد (جدول ۲). در تیمارهای سایه‌دهی با داربست، تورها به‌طور کامل در ۴۰ سانتی‌متری بالای تاج درخت روی پایه‌هایی به ارتفاع چهار متر نصب شدند، به‌طوری که کل درختان و فاصله بین ردیف‌ها در سایه‌دهی کامل قرار گرفتند. در تیمارهای سایه‌دهی روی تاج درخت، توری‌ها به‌طور مستقیم روی درختان پهن شدند، به‌صورتی که چهار سمت درخت در سایه قرار داشت و فاصله بین درختان با سایبان پوشانده نشد. در زمان انجام آزمایش، کلیه عملیات نگهداری باغ شامل تغذیه، هرس، مبارزه با علف‌های هرز و مبارزه با آفات براساس

اصول علمی و برای کلیه تیمارها به‌طور یکنواخت انجام گردید. سایبان‌ها اواسط خرداد و در حدود ۳۰ روز بعد از مرحله تمام گل یعنی زمانی که گل‌های سری اول دارای قطری در حدود پنج سانتی‌متر بودند روی درختان نصب شد و تا آخر شهریور ماه باقی مانده و سپس جمع‌آوری شدند.

دمای چهار جهت بیرونی تاج درخت با کمک دماسنج مادون قرمز (ساخت شرکت Tes تایوان) و میزان شدت نور در فاصله یک متری زیر پوشش توری با دستگاه نورسنج (ساخت شرکتLutron تایوان) در تیر ماه و مرداد ماه در ساعت ۱۲ ظهر اندازه‌گیری شد. همچنین اندازه‌گیری میزان رطوبت خاک دو بار در طول فصل رشد و قبل از آبیاری به‌صورت درصد وزنی صورت گرفت (جدول ۳). به این منظور، در قسمت سایه‌انداز درخت و در قسمت شمالی و جنوبی درخت به فاصله ۵۰ سانتی‌متری از تنه و ۳۰ سانتی‌متر از قطره‌چکان‌ها دو گودال به عمق ۳۰ سانتی‌متر حفر گردید و حدود نیم کیلوگرم خاک از انتهای هر گودال برداشت شد و با هم مخلوط گردید و از این خاک جهت تعیین درصد رطوبت وزنی خاک استفاده شد.

میوه‌ها در اول آبان (۱۵۹ روز بعد از مرحله تمام گل) و همزمان با برداشت میوه درختان انار در منطقه و زمانی که میزان مواد جامد محلول کل آب میوه به حداقل ۱۸ درجه بریکس رسید، برداشت شدند. میوه‌ها به آزمایشگاه منتقل گردیدند و ویژگی‌های فیزیکی مختلف میوه شامل متوسط وزن میوه، متوسط وزن دانه‌ها، رنگ دانه (با استفاده از دستورالعمل ملی آزمون‌های تمایز، یکنواختی و پایداری انار (Meighani et al., 2017) براساس حالات تظاهر آن‌ها به رنگ دانه ۱- سفید، ۲- صورتی، ۳- قرمز روشن، ۴- قرمز و ۵- قرمز تیره نمره داده شد)، قطر پوست میوه (با استفاده از کولیس دستی با مارک تجاری R&N) و عملکرد کل درختان (برداشت کل میوه درخت) بررسی شد. جهت اندازه‌گیری خصوصیات بیوشیمیایی از میوه‌های برداشت‌شده آب میوه تهیه شد و سپس میزان مواد جامد محلول با کمک رفراکتومتر دستی (ساخت کارخانه ATC کشور کره) اندازه‌گیری گردید.

جدول ۱- ویژگی‌های آب‌وهوایی منطقه کوه چنار طی سال‌های ۱۳۹۹ الی ۱۴۰۰

Table 1- Climatic characteristics of the Kouh Chenar region during the years 2020 to 2021

ماه Month	دمای کمینه Temp (Max) (^{O}C)		دمای بیشینه Temp (Max) (^{O}C)		بارندگی Rain (mm)	
	۱۳۹۹ (2020)	۱۴۰۰ (2021)	۱۳۹۹ (2020)	۱۴۰۰ (2021)	۱۳۹۹ (2020)	۱۴۰۰ (2021)
فروردین Mardh / April	4	2	35	35	27	0
اردیبهشت April / May	11	9	42	40	0	13
خرداد May / June	14	12	44	45	0	0
تیر June / July	20	21	45	45	32	0
مرداد July / Agust	21	21	45	45	0	75
شهریور Agust / Sept.	17	17	43	42	0	2
مهر Sept. / Oct.	10	10	40	46	0	0
آبان Oct. / Nov.	8	7	34	33	47	4.7
آذر Nov. / Des.	1	2	21	27	27	16.9
دی Des. / Janury	-2	0	24	21	13	243
بهمن Janury / Feb.	-2	-4	22	24	83	47.4
اسفند Feb. / March	2	2	31	28	33	12

جدول ۲- تیمارهای مختلف سایبان مورد استفاده در آزمایش

Table 2- Various shading net treatments used in the experiment

تیمار Treatments	نوع سایبان، رنگ و درصد سایه‌دهی Net type, color, shading percentage
C	شاهد، بدون پوشش سایبان Control
W30%B	پوشش سایبان سفید ۳۰ درصد نصب روی داربست Green net with 30% shading on Base
W30%NB	پوشش سایبان سفید ۳۰ درصد روی تاج درخت Green net with 30% shading on Canopy
W50%B	پوشش سایبان سفید ۵۰ درصد نصب روی داربست Green net with 50% shading on Base
W50%NB	پوشش سایبان سفید ۵۰ درصد روی تاج درخت Green net with 50% shading on Canopy
G30%B	پوشش سایبان سبز ۳۰ درصد نصب روی داربست Green net with 30% shading on Base
G30%NB	پوشش سایبان سبز ۳۰ درصد روی تاج درخت Green net with 30% shading on Canopy
G50%B	پوشش سایبان سبز ۵۰ درصد نصب روی داربست Green net with 50% shading on Base
G50%NB	پوشش سایبان سبز ۵۰ درصد روی تاج درخت Green net with 50% shading on Canopy

جدول ۳- میانگین دو ساله اندازه‌گیری شدت نور، دمای برگ و رطوبت خاک در ۱۵ مرداد ماه هر سال در هر یک از تیمارها

Table 3- Two-year average of light intensity, leaf temperature, and soil moisture measured on August 15 of each year in each of the treatmentst

تیمارها Treatments	رطوبت خاک Soil moisture (%)	دمای برگ Leaf temp (^{o}C)	شدت نور Light intensity (Lux)
سایبان سفید ۳۰٪ با داربست W30%B	10.6	27.83	31000
سایبان سفید ۳۰٪ بدون داربست W30%NB	10.6	25.27	22600
سایبان سفید ۵۰٪ با داربست W50%B	12	28	25100
سایبان سفید ۵۰٪ بدون داربست W50%NB	11.3	26	24300
سایبان سبز ۳۰٪ با داربست G30%B	13.3	25.5	22500
سایبان سبز ۳۰٪ بدون داربست G30%NB	11.3	29	20500
سایبان سبز ۵۰٪ با داربست G50%B	15	26.4	14570
سایبان سبز ۵۰٪ بدون داربست G50%NB	12	26.3	10800
شاهد Control	10.6	31.2	56300

میزان ویتامین ث با استفاده از روش بور و همکاران (Bor et al., 2006) اندازه‌گیری شد. به این منظور، به ۱۰۰ میکرولیتر آب میوه، ۱۰ میلی‌لیتر اسید متافسفریک یک درصد اضافه و ورتکس شد. به یک میلی‌لیتر از این مخلوط نُه میلی‌لیتر محلول ایندوفنول ۵۰ میکرومولار اضافه و مجدداً ورتکس گردید.

نمونه‌ها در طول موج ۵۱۵ نانومتر با کمک اسپکتوفتومتر (سارتریوس مدل PP50 ساخت آلمان) قرائت شدند و غلظت ویتامین ث با کمک نمونه‌های استاندارد ویتامین ث تعیین و به‌صورت میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب میوه گزارش شد. برای اندازه‌گیری میزان کل ترکیبات فنولی از روش سینگلتون و همکاران (Singleton et al., 1999) استفاده شد. به این منظور، به ۳۰۰ میکرولیتر آب میوه رقیق‌شده، ۱/۵ میلی‌لیتر محلول معرف فولین–سیوکالتیو رقیق‌شده با آب مقطر (۱:۱۰) اضافه شد. به این مخلوط، ۱/۲ میلی‌لیتر محلول سدیم کربنات ۷/۵ درصد اضافه گردید و پس از ۹۰ دقیقه، جذب نوری با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۲۵ نانومتر قرائت گردید. با کمک نمودارهای استاندارد تهیه‌شده با اسید گالیک، غلظت ترکیبات فنولی برگ محاسبه و به‌صورت میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب میوه بیان شد.

غلظت آنتوسیانین با استفاده از روش ناکامورا و همکاران (Nakamura et al., 1990) و به‌روش اختلاف pH با کمک دو سیستم بافر پتاسیم کلرید (۰/۰۲۵ مولار و pH=1) و سدیم استات (۰/۴ مولار و pH=4/5) اندازه‌گیری شد. به این منظور، به ۰/۴ میلی‌لیتر از آب میوه، ۳/۶ میلی‌لیتر از هر یک از بافرها اضافه گردید و سپس نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در دو طول موج ۵۱۵ و ۷۰۰ نانومتر قرائت شد. در پایان دو سال آزمایش، داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ۲۷) آنالیز شدند و میانگین داده‌ها با کمک آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد و مورد مقایسه قرار گرفتند.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس صفات کمّی اندازه‌گیری‌شده در جدول ۴ ارائه شده است. براساس نتایج حاصل از این پژوهش، تأثیر کاربرد سایبان بر خصوصیات کمّی میوه انار رقم 'رباب' معنی‌دار بود.

وزن تر و خشک دانه انار (آریل)

بررسی نتایج به‌دست‌آمده از کاربرد انواع مختلف سایبان بر وزن تر دانه‌های انار رقم 'رباب' نشان داد که بیشترین وزن دانه‌ها در تیمارهای سایبان سبز ۵۰ درصد (بدون داربست و با داربست) و سایبان سفید ۵۰ درصد بدون داربست حاصل شد که تفاوت معنی‌داری را با شاهد و سایر تیمارها در سطح پنج درصد نشان داد (شکل ۱). اندازه‌گیری وزن خشک دانه‌ها نیز نشان‌دهنده تأثیر مثبت کاربرد سایبان داشت. به‌طوری که بیشترین وزن خشک ۱۰۰ دانه در تیمار سایبان سبز ۵۰ درصد همراه با داربست (G50 B) مشاهده شد (به‌میزان ۱۰/۰۲ گرم) که نسبت به شاهد تفاوت معنی‌داری در سطح پنج درصد نشان داد (شکل ۲).

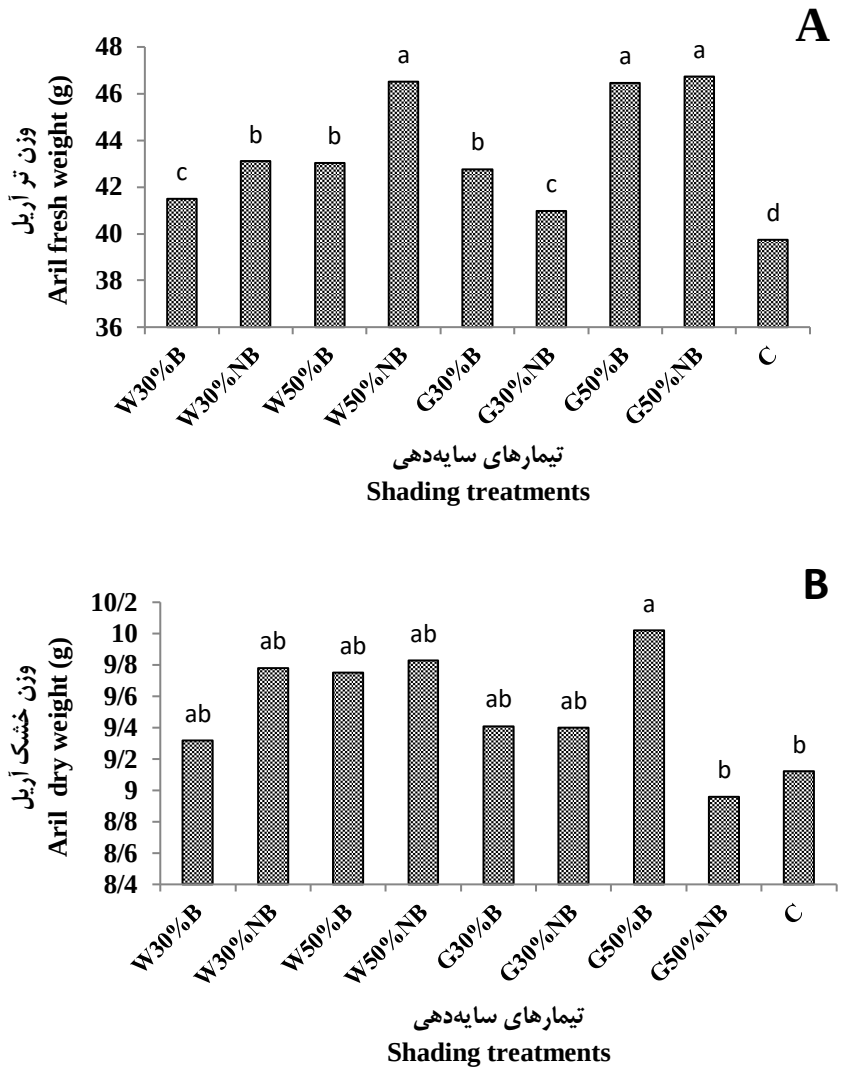
جدول ۴- تجزیه واریانس اثر نوع سایبان بر صفات کمّی اندازه‌گیری‌شده میوه انار رقم 'رباب'

Table 4- ANOVA for the effects of shading net types on the quantitative characteristics of pomegranate fruits cv. 'Rabab'

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean of squares						
		وزن تر دانه Aril dry weight	وزن خشک Aril dry weight	رنگ دانه Aril color	وزن میوه Fruit weight	وزن پوست Peel weight	نسبت دانه به پوست Aril/peel ratio	درصد آب Fruit juice
سال Year	1	0.431^{ns}	0.967 ^{ns}	0.019^{ns}	244.908^{ns}	1290.667^{ns}	0.001^{ns}	19.923^{ns}
سایبان Shade net	8	331.174^{ns}	0.691^{ns}	0.989*	5014.831*	2719.592*	0.211**	59.048**
سال × سایبان Year × shade net	8	12.503 ^{ns}	1.506^{ns}	0.036 ^{ns}	300.532 ^{ns}	17.125 ^{ns}	0.020 ^{ns}	3.983 ^{ns}
خطای کل Error	32	171.920	0.432	0.060	2172.103	545.463	0.068	14.244
ضریب تغییرات C.V (%)	-	5.34	7.73	6.16	12.75	11.87	24.14	9.56

*،** وns : به‌ترتیب معنی‌دار در سط احتمال ۵ و ۱۰ درصد و غیرمعنی‌دار.

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



شکل ۱-تأثیر انواع پوشش سایبان بر وزن تر (A) و وزن خشک (B) آریل انار رقم 'رباب'

Figure 1- The effect of shading net types on the aril fresh (A) and dry (B) weights of pomegranate cv. 'Rabab' (DMRT, p≤0.05)

W: سایبان سفید، G: سایبان سبز، B: نصب سایبان روی پایه و NB: نصب سایبان بدون پایه، ۳۰ و ۵۰ درصد میزان سایه‌دهی می‌باشد.

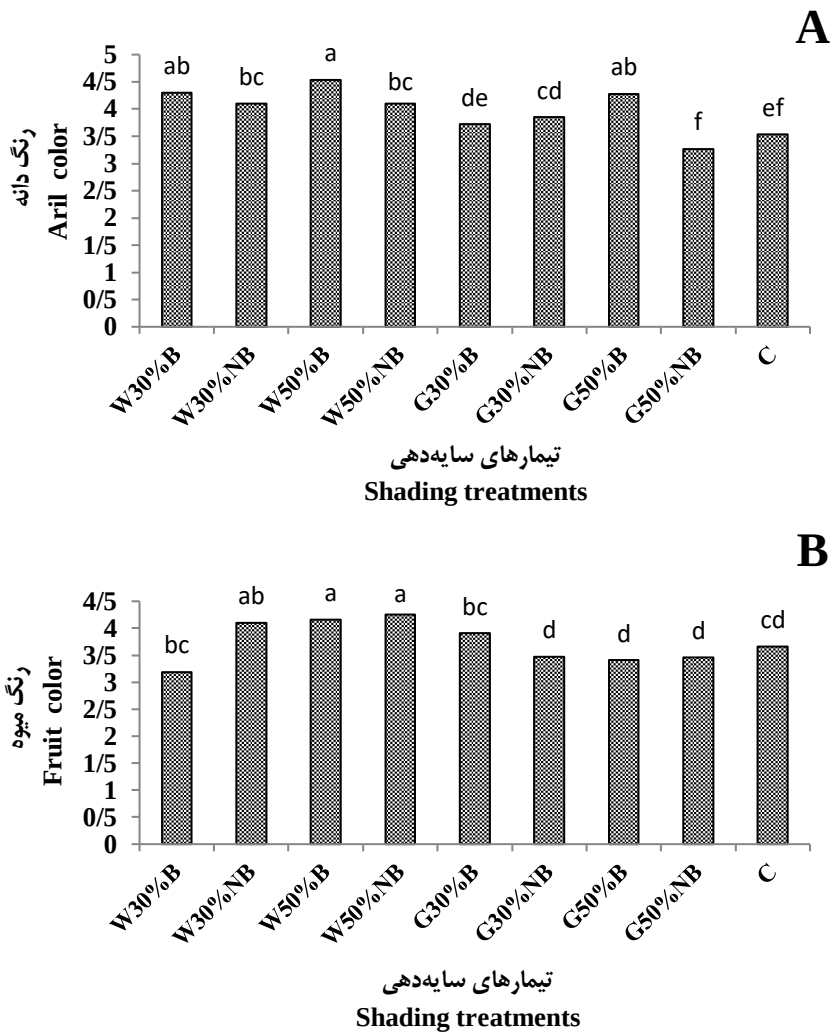
W: white shade net; G: green shade net; B: shade net installed on a support frame; NB: shade net installed without **a** support frame, 30 and 50% indicate the shading levels.

از بین تیمارهای به‌کاربرده‌شده، استفاده از سایبان ۵۰ درصد سبز با داربست بیشترین تأثیر را روی افزایش وزن خشک دانه داشت. افزایش وزن خشک دانه‌ها را می‌توان به‌خاطر تأثیر این نوع از سایبان در کاهش دمای سطح برگ و میوه دانست (جدول ۲) که به‌طور مستقیم بر میزان آب در دسترس گیاه و آب موجود در میوه تأثیر گذاشته و از طرف دیگر با بهبود شرایط دمایی و رطوبتی اطراف گیاه می‌تواند باعث بهبود راندمان فتوسنتز در گیاه گردد که این امر بر رشد و نمو میوه و وزن تر و خشک دانه تأثیر مثبت گذارد. در همین رابطه، نرجسی (Narjesi, 2021) نشان داد که کاربرد سایبان سفید ۵۰ درصد باعث افزایش وزن دانه و میوه انار رقم ملس ساوه شد. در تأیید این موضوع، کیل و همکاران (Kale et al., 2018) در پژوهش خود در کشور هند مشاهده کردند که استفاده از سایبان سیاه ۵۰ درصد باعث افزایش قابل توجه وزن دانه و درصد آب میوه در گیاهان رشدیافته زیر سایبان در مقایسه با شاهد شد. در همین رابطه، ساکا و اوزر (Sarıbaş et al., 2018) در پژوهش خود روی گیاه فلفل سبز (*Capsicum annuum*)، افزایش وزن میوه و درصد آب میوه را

مشاهده کردند. می‌توان چنین عنوان نمود که افزایش دمای اطراف میوه باعث کاهش تبخیر شده که این موضوع می‌تواند بر میزان آب پوست و دانه مؤثر باشد (Ehteshami et al., 2010).

رنگ دانه (آریل) و میوه

بهترین رنگ دانه انار در تیمار سایبان سفید رنگ ۵۰ درصد همراه با داربست (W50B) به دست آمد. با شاخص رنگ دانه ۴/۵ در این تیمار، دانه‌ها دارای رنگ قرمز تیره بودند (شکل ۲) رنگ دانه این تیمار نسبت به شاهد و اکثر تیمارها تفاوت معنی‌داری در سطح پنج درصد داشت (شکل ۲ و ۳). در همین رابطه، استفاده از سایبان باعث بهبود رنگ پوست میوه نیز گردید، به‌طوری که در تیمار سایبان سفید رنگ ۵۰ درصد بدون داربست (W50NB) با دارا بودن شاخص رنگ ۴/۲۵ دارای بالاترین شاخص رنگ میوه در بین تیمارهای مورد آزمایش بود. این تیمار با تیمار سایبان سفید ۵۰ درصد با داربست و تیمار سفید ۳۰ درصد بدون داربست تفاوت معنی‌داری را در رابطه با شاخص رنگ میوه نشان نداد، امّا نسبت به سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد داشت. این در حالی است که شاخص رنگ میوه در تیمارهای سایبان سبز رنگ پایین‌تر بود.

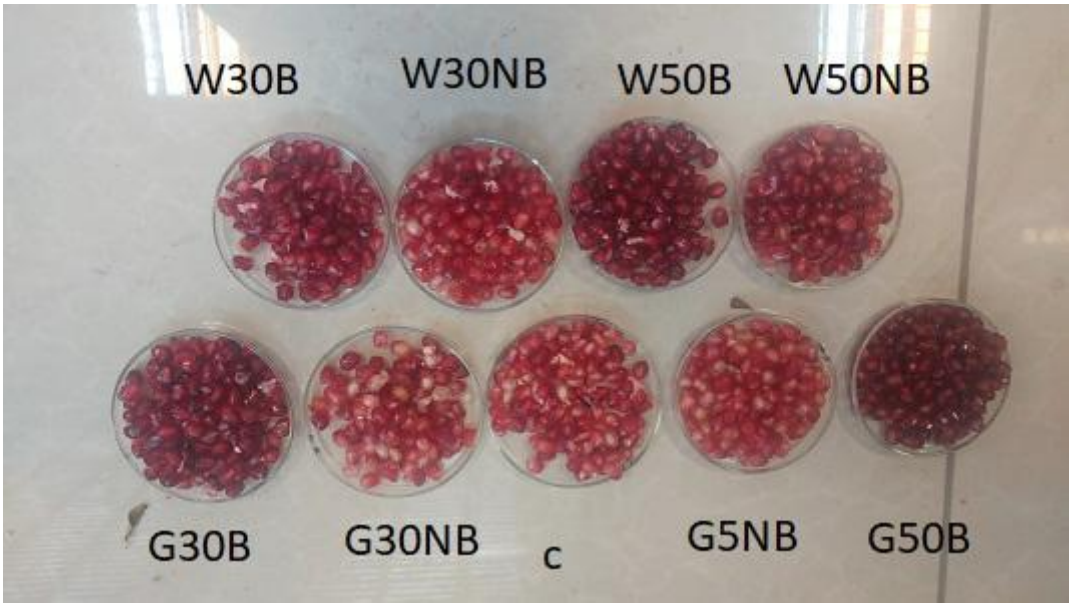


شکل ۲- تأثیر انواع پوشش سایبان بر رنگ آریل (A) و شاخص رنگ (B) میوه انار رقم 'رباب'

Figure 2- The effect of shading net types on the aril (A) and fruit (B) color of pomegranate cv. 'Rabab' (DMRT, $p \leq 0.05$)

W: سایبان سفید، G: سایبان سبز، B: نصب سایبان روی پایه و NB: نصب سایبان بدون پایه، ۳۰ و ۵۰ درصد میزان سایه‌دهی می‌باشد.

W: white shade net; G: green shade net; B: shade net installed on a support frame; NB: shade net installed without a support frame, 30 and 50% indicate the shading levels.

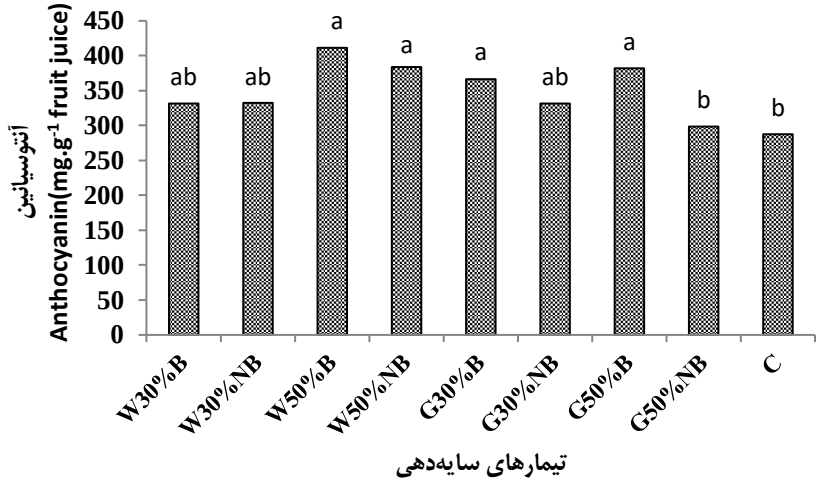


شکل ۳- رنگ دانه میوه انار رقم 'رباب' در تیمارهای مختلف سایبان

Figure 3- The aril color of pomegranate cv. 'Rabab' in different shading net treatments

W: سایبان سفید، G: سایبان سبز، B: نصب سایبان روی پایه و NB: نصب سایبان بدون پایه، ۳۰ و ۵۰ درصد میزان سایه‌دهی می‌باشد.

W: white shade net; G: green shade net; B: shade net installed on a support frame; NB: shade net installed without a support frame, 30 and 50% indicate the shading levels.



شکل ۴-تأثیر انواع پوشش سایبان بر میزان آنتوسیانین آب میوه انار رقم 'رباب'

Figure 4- The effect of shading net types on the fruit anthocyanin content of pomegranate cv. 'Rabab' (DMRT, $p \leq 0.05$)

W: سایبان سفید، G: سایبان سبز، B: نصب سایبان روی پایه و NB: نصب سایبان بدون پایه، ۳۰ و ۵۰ درصد میزان سایه‌دهی می‌باشد.

W: white shade net; G: green shade net; B: shade net installed on a support frame; NB: shade net installed without a support frame, 30 and 50% indicate the shading levels.

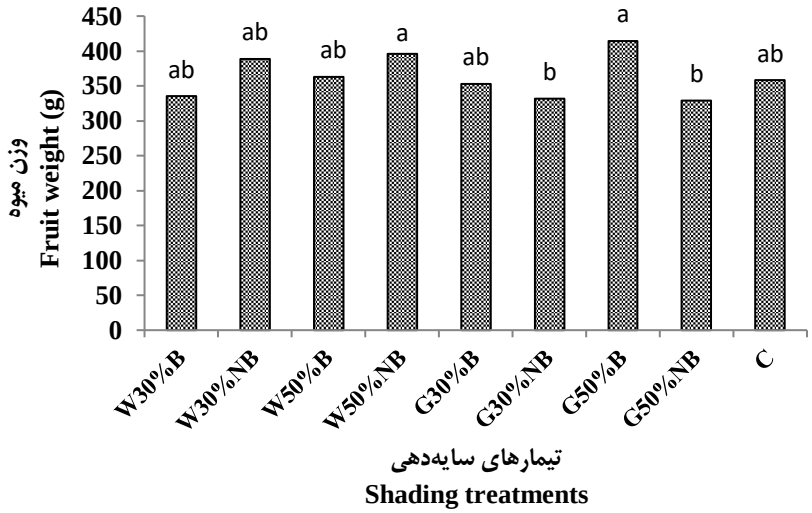
به عبارت دیگر، تیمارهای سایبان سفید دارای رنگ بهتری از تیمارهای سایبان سبز رنگ بودند. تیمار شاهد نیز از لحاظ رنگ میوه دارای پوست روشن‌تر نسبت به تیمار پوشش سفید بودند (شکل ۲). در این رابطه، اندازه‌گیری میزان آنتوسیانین آب میوه نیز نشان‌دهنده تأثیر کاربرد سایبان بر افزایش میزان آنتوسیانین آب میوه داشت، به‌طوری که در اکثر تیمارهای سایبان، میزان تجمع آنتوسیانین در آب میوه بیشتر از شاهد بود. بیشترین میزان آنتوسیانین آب میوه در تیمار سایبان سفید ۵۰ درصد با داربست به‌میزان ۴۱۱/۷ میلی گرم در گرم آب میوه مشاهده شد که نسبت به شاهد تفاوت معنی‌داری را در سطح پنج درصد نشان داد. در این رابطه، نتایج نشان داد که استفاده از

سایبان در اکثر تیمارها باعث بهبود رنگ دانه و میوه و تجمع آنتوسیانین شد (شکل ۳ و ۴). تأثیر مثبت رنگ سایبان بر رنگ دانه را می‌توان به کاهش تأثیر مخرب نور خورشید نسبت داد که باعث گرم‌تر شدن سطح میوه و افزایش دمای سطح میوه شده و بر تجمع آنتوسیانین که رنگ دانه اصلی دانه انار است، تأثیر گذاشته و باعث روشن‌تر شدن رنگ میوه می‌گردد. به‌طورکلی تجمع آنتوسیانین در میوه در دماهای پایین افزایش و در دمای بالا کاهش می‌یابد (Meighani et al., 2017). استفاده از سایبان با ایجاد سایه روی درخت و میوه باعث کاهش دمای اطراف درخت شده و در نتیجه فرآیند تجمع آنتوسیانین در میوه تسریع می‌گردد (Manja & Aoun, 2019). در تأیید این موضوع، کیل و همکاران (Kale et al., 2018) نشان دادند که میوه‌های انار که در زیر سایبان‌های رنگی رشد کنند دارای رنگ قرمز درخشان‌تری هستند. روشن‌تر بودن رنگ دانه در میوه‌هایی که درفضای باز رشد کرده بودند در مقایسه با میوه‌هایی که زیر پوشش بودند، قبلاً در گزارش منا و همکاران (Meena et al., 2016) نیز بیان شده بود.

وزن میوه، وزن پوست و نسبت گوشت به پوست میوه

اندازه‌گیری وزن میوه‌های برداشت‌شده در تیمارهای مختلف نشان داد که در این رابطه، تفاوت معنی‌داری بین تیمارها وجود دارد. بیشترین متوسط وزن میوه به‌میزان ۴۱۴ گرم در تیمار سایبان سبز ۵۰ درصد با داربست (G50B) مشاهده شد، درحالی‌که کمترین وزن میوه در تیمارهای سایبان سبز ۵۰ درصد بدون داربست و سبز ۳۰ درصد بدون داربست (G50NB و G30NB) مشاهده شد و بین تیمارها تفاوت معنی‌داری مشاهده گردید (شکل ۷). افزایش وزن دانه و در نتیجه آن افزایش وزن کل میوه را می‌توان به عوامل مختلفی از جمله کاهش میزان تبخیر و تعرق از درخت و میوه نسبت داد که باعث تجمع بیشتر آب در درخت شده و منجر به افزایش وزن دانه و میوه می‌گردد. در واقع، میوه‌هایی که در معرض نور مستقیم خورشید هستند به‌علت دمای بالاتر محیط، آب بیشتری از دست داده و این امر باعث کاهش وزن دانه و میوه در این گونه درختان می‌گردد (Shahak, 2008). در همین رابطه، مدیتشوا و همکاران (Mditshwaa et al., 2019) در پژوهش خود عنوان نمودند که کاربرد پوشش‌های سایبان باعث افزایش وزن میوه نسبت به شاهد خواهد شد. به‌طوری که کاربرد پوشش سایبان قرمز ۳۰ درصد روی درختان انار منجر به تولید میوه‌هایی با بالاترین وزن شد.

بیشترین وزن پوست میوه در شاهد به‌میزان ۲۱۲ گرم مشاهده گردید و کمترین وزن پوست میوه نیز در تیمارهای سایبان سبز ۳۰ درصد بدون داربست (G30NB) مشاهده شد. در این آزمایش، تیمار شاهد نسبت به اکثر تیمارها به‌جز تیمارهای W50NB و G50B تفاوت معنی‌داری داشت (شکل ۶).



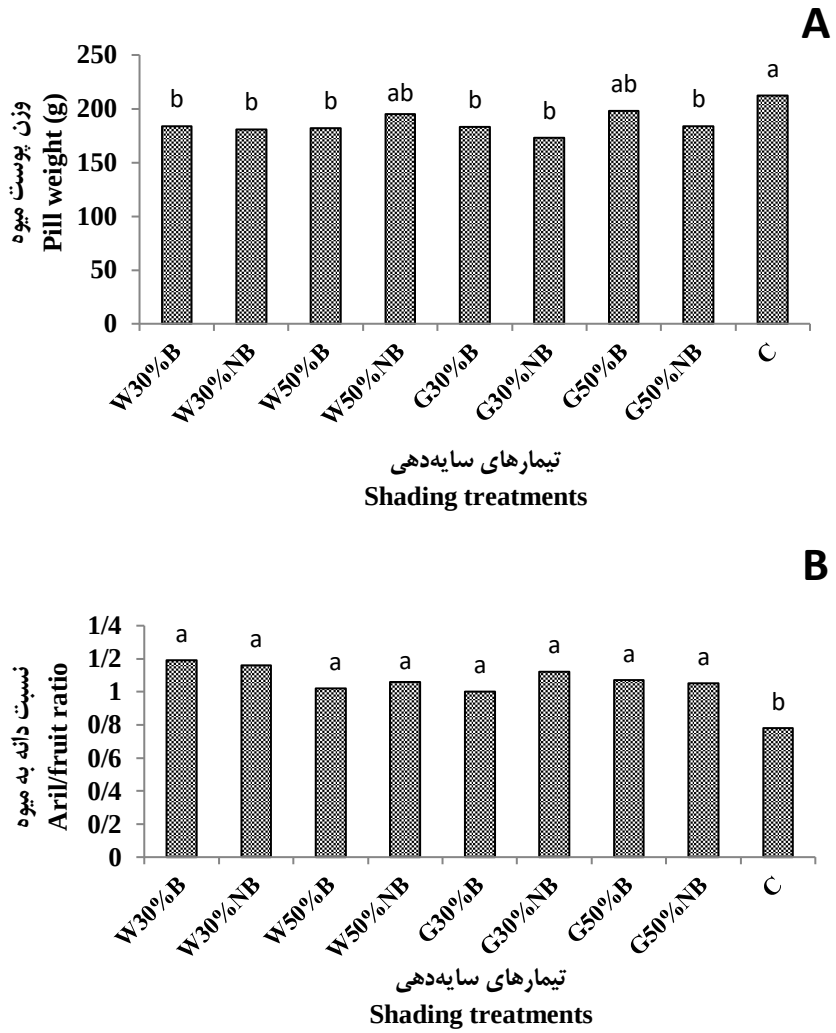
شکل ۵- تأثیر کاربرد انواع پوشش سایبان بر وزن میوه انار رقم 'رباب'

Figure 5- The effect of shading net types on the fruit weight of pomegranate cv. 'Rabab' (DMRT, $p \leq 0.05$)

W: سایبان سفید، G: سایبان سبز، B: نصب سایبان روی پایه و NB: نصب سایبان بدون پایه، ۳۰ و ۵۰ درصد میزان سایه‌دهی می‌باشد.

W: white shade net; G: green shade net; B: shade net installed on a support frame; NB: shade net installed without a support frame, 30 and 50% indicate the shading levels.

اندازه‌گیری نسبت بین وزن دانه و پوست میوه در تیمارهای مختلف نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین تیمارها وجود دارد. به‌طوری که بیشترین نسبت بین وزن گوشت میوه و پوست در تیمار سایبان سفید ۳۰ درصد همراه با داربست (W30B) (۱/۱۹) و کمترین نسبت در تیمارهای شاهد (۰/۷۳) دیده شد که نسبت به هم تفاوت معنی‌داری را نشان داد (شکل ۶). بالاتر بودن وزن پوست میوه در شاهد در حالی است که در تمام تیمارهای سایبان، نسبت وزن دانه به وزن پوست میوه بالاتر بود. به عبارت دیگر، استفاده از سایبان با افزایش وزن دانه و همچنین کاهش وزن پوست (درتیمارهای سایبان) باعث بهبود ویژگی‌های فیزیکی میوه گردید. بیشتر بودن وزن پوست میوه در شاهد را می‌توان به تأثیر مستقیم نور خورشید و سازگاری که میوه با این شرایط از خود نشان می‌دهد، مربوط دانست. در واقع، میوه با افزایش وزن پوست، محافظت بیشتری از محتویات درون میوه در برابر شرایط خشکی از خود نشان می‌دهد. این در حالی است که در تیمارهای سایبان، این محافظت با استفاده از سایبان و کاهش شدت نور خورشید و محافظت بیشتر از میوه انجام می‌گیرد.



شکل ۶-تأثیر انواع پوشش سایبان بر وزن پوست میوه (A) و نسبت دانه به میوه (B) انار رقم 'رباب'

Figure 6- The effect of shading net types on the peel weight (A) and aril/ fruit ratio (B) of pomegranate cv. 'Rabab' (DMRT, $p \leq 0.05$)

W: سایبان سفید، G: سایبان سبز، B: نصب سایبان روی پایه و NB: نصب سایبان بدون پایه، ۳۰ و ۵۰ درصد میزان سایه‌دهی می‌باشد.

W: white shade net; G: green shade net; B: shade net installed on a support frame; NB: shade net installed without a support frame, 30 and 50% indicate the shading levels.

بالاتر بودن وزن پوست میوه در شاهد در حالی است که در تمام تیمارهای سایبان نسبت وزن دانه به وزن پوست میوه بالاتر بوده است. به عبارت دیگر، استفاده از سایبان با افزایش وزن دانه میوه و همچنین کاهش وزن پوست باعث بهبود ویژگی‌های فیزیکی میوه شد. بیشتر بودن وزن پوست میوه در شاهد را می‌توان به تأثیر مستقیم نور خورشید و سازگاری که میوه با این شرایط از خود نشان می‌دهد، مربوط دانست. در واقع، میوه با افزایش وزن پوست، محافظت بیشتری از محتویات درون میوه در برابر شرایط خشکی از خود نشان می‌دهد. این در حالی است که در تیمارهای سایبان، این محافظت با استفاده از سایبان و کاهش شدت نور خورشید و محافظت بیشتر از میوه انجام می‌گیرد.

درصد آب میوه

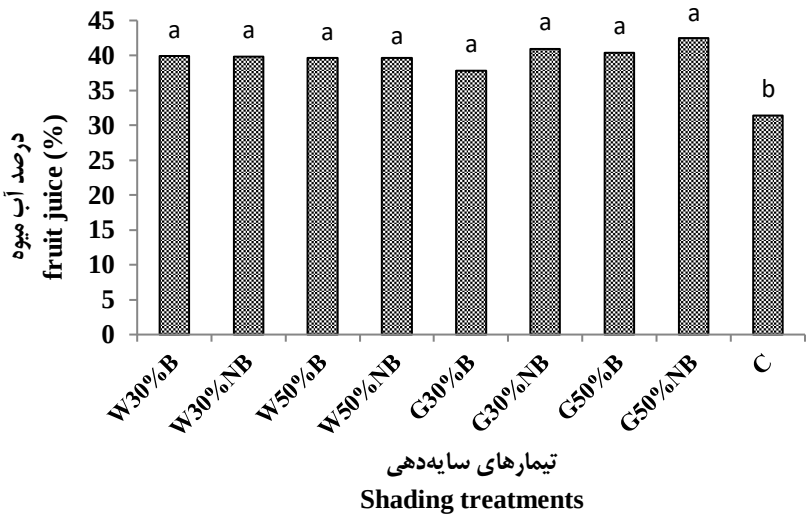
تأثیر کاربرد سایبان بر میزان آب میوه انار رقم رباب نشان داد که در تمام تیمارهای سایبان، میزان آب میوه نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری نشان داد. در این رابطه، مقایسه بین تیمارهای مختلف سایبان نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای مختلف سایبان وجود ندارد، اگرچه اعداد نشان‌دهنده افزایش بیشتر درصد آب میوه در سایبان سبز ۵۰ درصد نسبت به سایر تیمارها بود (شکل ۷) کاهش میزان آب میوه در شاهد را می‌تواند به‌علت شدت بالای نور خورشیدی در این تیمار باشد که باعث از دست دادن آب و خشک شدن میوه می‌گردد. به عبارت دیگر، در زیر سایبان به‌دلیل کاهش دما و شدت نور، کاهش تبخیر آب از سطح میوه‌ها اتفاق افتاده و این امر بر میزان آب میوه تأثیر مستقیم دارد. در همین رابطه، در پژوهشی در کشور هند، افزایش معنی‌دار در وزن دانه و درصد آب‌میوه در زیر پوشش سایبان سیاه ۳۰، درصد مشاهده شد (Sarıbaş et al., 2018) در پژوهشی دیگر، استفاده از پوشش قرمز ۳۰ درصد باعث افزایش نُه گرمی وزن دانه و دو درصدی آب‌میوه در میوه‌های انار در مقایسه با شاهد شد (Meena et al., 2016).

ویژگی‌های شیمیایی میوه

تجزیه واریانس ویژگی‌های کیفی اندازه‌گیری‌شده در جدول ۵ ارائه شده است. بر این اساس، تغییرات میزان مواد جامد محلول کل تفاوت معنی‌داری را نشان نداد، امّا سایر ویژگی‌های کیفی تفاوت معنی‌داری داشتند.

مواد جامد محلول

بررسی تأثیر کاربرد سایبان بر میزان مواد جامد محلول (TSS) نشان داد که کاربرد سایبان تأثیری بر میزان مواد جامد محلول نداشت و در واقع، استفاده از سایبان باعث کاهش و یا افزایش معنی‌دار مواد جامد محلول نشد. در این رابطه، دامنه تغییرات این صفت در تیمارهای اندازه‌گیری‌شده کم بود، به‌طوری که حداکثر میزان آن در تیمار پوشش سایبان سبز ۳۰ درصد بدون داربست به‌میزان ۱۹/۵۰ درجه بریکس به دست آمد.



شکل ۷- تأثیر انواع پوشش سایبان بر درصد آب میوه انار رقم 'رباب'

Figure 7- The effect of shading net types on the fruit juice percentage of pomegranate cv. 'Rabab' (DMRT, $p \leq 0.05$)

W: سایبان سفید، G: سایبان سبز، B: نصب سایبان روی پایه و NB: نصب سایبان بدون پایه، ۳۰ و ۵۰ درصد میزان سایه‌دهی می‌باشد.

W: white shade net; G: green shade net; B: shade net installed on a support frame; NB: shade net installed without a support frame, 30 and 50% indicate the shading levels.

گزارش‌های متناقضی در رابطه با تأثیر سایبان بر میزان مواد جامد محلول وجود دارد، امّا در پژوهش حاضر استفاده از سایبان تأثیر منفی بر تجمع قند و میزان مواد جامد محلول نداشت. به عبارت دیگر، استفاده از سایبان تأثیر منفی بر تجمع قند در گیاه نداشت. شاید یکی از دلایل این موضوع، بالا بودن شدت نور در منطقه آزمایش باشد (جدول ۳) که علی‌رغم کاهش شدت نور تأثیر منفی بر میزان فتوسنتز و در نهایت تولید قند در گیاه نداشت.

اسید آسکوربیک

بیشترین غلظت اسید آسکوربیک در تیمار سایبان سبز ۳۰ درصد بدون داربست (G30NB) به‌میزان ۰/۲۶ میلی گرم در گرم وزن آب میوه مشاهده شد که به همراه تیمار سبز ۵۰ درصد بدون داربست (W50NB) نسبت به شاهد (C) تفاوت معنی‌داری را نشان داد (شکل ۸).

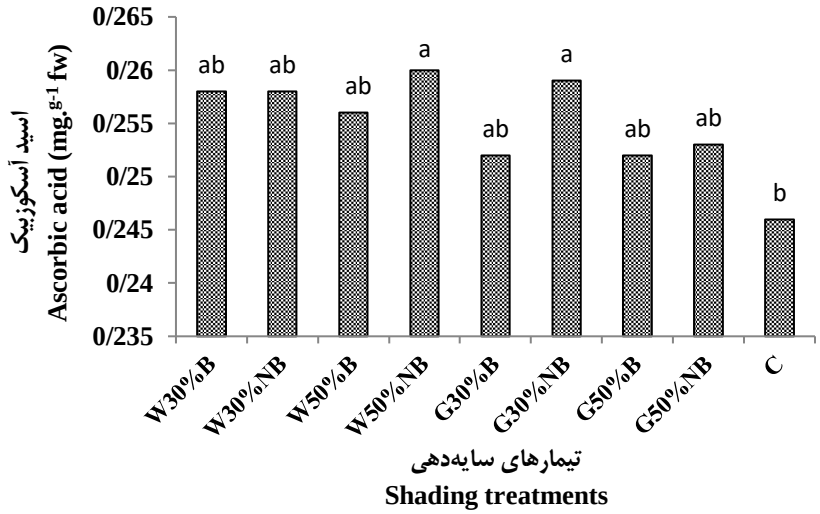
جدول ۵- تجریه واریانس اثر سایبان بر صفات کیفی اندازه‌گیری‌شده میوه انار رقم 'رباب'

Table 5- ANOVA for the effects of shading net types on the qulitative characteristics of pomegranate fruits cv. 'Rabab'

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean of squares			
		مواد جامد محلول کل TSS	آنتوسیانین Anthocyanin	اسید آسکوربیک Ascorbic acid	فنول کل Total phenol
سال Year	1	0.0001^{ns}	1271.190^{ns}	0.004ns	0.112^{ns}
سایبان Shade net	8	0.714^{ns}	13387.510**	0.001*	0.040*
سال × سایبان Year × shade net	8	0.090^{ns}	1299.726^{ns}	0.0001^{ns}	0.0001^{ns}
خطای کل Error	32	1.307	4001.534	0.0009	0.018
ضریب تغییرات C.V (%)	-	6.08	16.99	3.79	14.46

*،** و ns: به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱۰ درصد و غیرمعنی‌دار.

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



شکل ۸- تأثیر کاربرد انواع پوشش سایبان بر غلظت اسید آسکوربیک میوه انار رقم 'رباب'

Figure 8- The effect of shading net types on the ascorbic acid content of fruit juice of pomegranate cv. 'Rabab' (DMRT, $p \leq 0.05$)

W: سایبان سفید، G: سایبان سبز، B: نصب سایبان روی پایه و NB: نصب سایبان بدون پایه، ۳۰ و ۵۰ درصد میزان سایه‌دهی می‌باشد.

W: white shade net; G: green shade net; B: shade net installed on a support frame; NB: shade net installed without a support frame, 30 and 50% indicate the shading levels.

به‌طورکلی در شاهد که در معرض نور مستقیم خورشید بود، مقدار ویتامین ث موجود در آب میوه کاهش یافت. پایین بودن سطح ویتامین ث در شاهد نسبت به اکثر تیمارهای سایبان می‌تواند در رابطه با بالاتر بودن دمای محیطی پیرامون میوه در شاهد باشد که باعث اختلال در تجمع ویتامین ث و یا شکستن ویتامین ث در میوه می‌گردد (Bofars, 2022). در همین رابطه، به نظر می‌رسد که سایبان‌های سبز نیز تأثیر منفی بر تجمع ویتامین ث در آب میوه داشتند، به‌طوری که در اکثر تیمارهای سایبان سبز، کاهش میزان ویتامین ث مشاهده شد که این امر در گزارش نرجسی (Narjesi, 2021) در رابطه کاربرد سایبان در انار رقم ملس ساوه نیز مشاهده شد. تأثیر افزایش دما بر کاهش سطح ویتامین ث در میوه‌های مرکبات نیز توسط بوفارس (Bofars, 2022) نیز گزارش شده که با نتایج این پژوهش هم‌خوانی داشت.

ترکیبات فنولی آب میوه

در رابطه با غلظت فنول آب میوه نیز نتایج تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. بیشترین میزان فنول کل آب میوه در تیمار سایبان سفید ۵۰ درصد بدون داربست (W50NB) به‌میزان یک میلی گرم و کمترین آن در تیمار سایبان سفید ۳۰ درصد بدون داربست (W30NB) مشاهده شد. به‌طورکلی طی فرآیند رسیدن میوه انار میزان ترکیبات فنولی به‌تدریج کاهش می‌یابد. بالاتر بودن نسبی مقدار ترکیبات فنولی در برخی تیمارهای سایبان نسبت به شاهد را می‌توان به تأخیر در بلوغ و رسیدن میوه و طولانی‌تر شدن روند بلوغ میوه در زیر سایبان نسبت داد (Kulkarni & Aradhya, 2005). در تحقیقات پیشین نیز گزارش شده است که کاربرد سایبان روی درختان انار منجر به افزایش فنول کل در میوه‌های انار تیمارشده در مقایسه با شاهد شد، به‌طوری که محتوای فنول کل در زیر پوشش سیاه کمترین و در زیر پوشش قرمز بیشترین مقدار بوده است (Meena et al., 2016). کیفیت و کمیت نور می‌تواند بر ترکیبات فنولی تأثیر داشته باشد. می‌توان چنین بیان کرد که کمیت و کیفیت نور در زیر پوشش‌های مختلف سایبان متفاوت بوده، بنابراین تأثیر آن‌ها در تجمع ترکیبات فنولی نیز متفاوت است (Cheynier et al., 2013; Johkan et al., 2013).

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که استفاده از سایبان تأثیر مثبتی بر بهبود شرایط محیطی اطراف درخت انار دارد. سایبان با کاهش شدت نور و دمای پیرامون درخت باعث بهبود شرایط محیطی اطراف درخت می‌گردد. با کاهش دمای اطراف درخت، میزان تبخیر از سطح خاک کاهش یافته و شرایط محیطی جهت رشد و نمو درخت و میوه بهبود می‌یابد. این امر می‌تواند به‌صورت مستقیم و غیرمستقیم بر فرآیندهای متابولیک درخت تأثیر گذارد. تعدیل دما باعث کاهش میزان تنفس و افزایش راندمان فتوسنتز شده که این امر بر رشد میوه و دانه و تجمع آنتوسیانین تأثیر مثبت گذارد. بهبود رنگ میوه و دانه و افزایش بازارپسندی میوه از شاخص‌ترین اثرات کاربرد سایبان در درخت انار است. در مجموع، در بیشتر فاکتورهای اندازه‌گیری‌شده، کاربرد سایبان تأثیر مثبتی بر جای گذاشت. از بین انواع مختلف سایبان نیز تأثیر برخی از آن‌ها بارزتر بود، به‌طوری که استفاده از سایبان به رنگ‌های سفید و یا سبز با حداقل سایه‌دهی ۵۰ درصد، بیشترین تأثیر را بر بهبود ویژگی‌های کمّی و کیفی، بازارپسندی و ارزش اقتصادی میوه داشته و می‌تواند تا حدود زیادی اثرات مخرب تنش‌های گرمایی و خشکی را کاهش دهد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از مدیریت محترم مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی فارس که امکانات و منابع مالی لازم جهت اجرای پروژه فوق را مهیا نمودند، سپاسگزاری می‌گردد.

References

1. Amarante, C., Steffens, C., & Argenta, L. (2010). Radiation, yield, and fruit quality of 'Gala'apples grown under white hail protection nets. *Acta Horticulturae*, *934*, 1067–1074. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2012.934.143
2. Blakey, R. J., van Rooyen, Z., Köhne, J. S., Malapana, K. C., Mazhawu, E., Tesfay, S. Z., & Savage, M. J. (2016). Growing avocados under shadenetting. Progress Report-Year 2, South African Avocado Growers' Assosiation Yearbook, vol. 39. pp. 80-83. https://doi.org/10.13140/RG.2.1.1162.3446
3. Bofars M. (2022). Effect of heated temperature environment on vitamin c in four fruit citrus juice. *South Asian Research Journal of Nursing and Health Care*, *4*, 79-83. https://doi.org/10.36346/sarjnhc.2022.v04i06.001
4. Bor, J. Y., Chen, H. Y., & Yen, G. C. (2006). Evaluation of antioxidant activity and inhibitory effect on nitric oxide production of some common vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *54*, 1680-1686. https://doi.org/10.1021/jf0527448

5. Cheynier, V., Comte, G., Davies, K. M., Lattanzio, V., & Martens, S. (2013). Plant phenolics: Recent advances on their biosynthesis, genetics and ecophysiology. *Plant Physiology and Biochemistry, 72*, 1-20. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2013.05.009
6. Ehteshami, S., Sarikhani, H., & Ershadi, A. (2010). Effect of kaolin and gibberellic acid application on some qualitative characteristics and reducing the sunburn in pomegranate fruits (*Punica granatum* L.) cv. 'Rabab Neiriz'. *Plant Production Technology*, *11*(1), 15-24. (In Persian).
7. Glenn, D. M., Wunsche, J., Mclvor, L., Nissen, R., & George, A. (2008). Ultraviolet radiation effects on fruit surface respiration and chlorophyll fluorescence. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, *83*(1), 43-50. https://doi.org/10.1080/14620316.2008.11512345
8. Holland, D., Hatib, K., & Bar-Ya'akov, I. (2009). Pomegranate: Botany, horticulture, breeding. *Horticultural Review*s, Volume 35, Chapter 2, p. 127-193. https://doi.org/10.1002/9780470593776.ch2
9. Iran agriculture statics (2023.) Deputy Director of Statistics, Center for Statistics, Information and Communication Technology. Jehad and Agriculture, Inestry, Tehran, Iran. (In persian).
10. Johkan, M., Ishii, M., Maruo, T., Na, L., Tsukagoshi, S., Hojoh, M. A., Nakaminami, A., & Shinohara, Y. (2013). Improved light conditions at the fruit truss accelerate harvest time and enhance ascorbic acid concentration in a low-truss, high-density tomato production system. *Japanese Society for Horticultural Science, 82*, 317–32. https://doi.org/10.2503/jjshs1.82.317
11. Kale, S. J., Nath, P., Meena, V. S., & Singh, R. K. (2018). Semi-permanent shadenet house for reducing the sunburn in pomegranates (*Punica granatum* L.). *International Journal of Chemical Studies*, *6*(5), 2053-2057.
12. Kulkarni, A. P., & Aradhya, S. M. (2005). Chemical changes and antioxidant activity in pomegranate arils during fruit development. *Food chemistry, 93*(2), 319-324. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.09.029
13. Manja, K., & Aoun, M. (2019). The use of nets for tree fruit crops and their impact on the production: A review. *Scientia Horticulturae*, *246*, 110–122. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.10.050
14. Mditshwaa, A., Magwazaa, L. S., & Tesfaya, S. Z. (2019). Shade netting on subtropical fruit: Effect onenvironmental conditions, tree physiology and fruit quality. *Scientia Horticulturae*, *256*, 108-121. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108556
15. Meena, V., Kashyap, P., Nangare, D., & Singh, J. (2016). Effect of coloured shade nets on yield and quality of pomegranate (*Punica granatum*) cv. "Mridula" in semiarid region of Punjab. *Indian Journal of Agricultural Sciences*, *86*(4), 500-505. https://doi.org/10.56093/ijas.v86i4.57485
16. Meighani, M., Ghasemnezhad, M., & Bakhshi, D. (2017). Effect of kaolin on the sunburn damage and qualitative characteristics of pomegranate fruit cv. Malas-e-Torsh-e-Saveh. *Iranian Journal of Horticultural Science*, *47*(3), 491-499. (In Persian). https://doi.org/10.22059/IJHS.2016.59811
17. Moradi, S., Zamani, Z., Fatahi Moghadam, M. R., & Koushesh Saba, M. (2022). Combination effects of preharvest tree net-shading and postharvest fruit treatments with salicylic acid or hot water on attributes of pomegranate frui. *Scientia Horticulturae*, *304*, 111257. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2022.111257
18. Nakamura, Y., Hidaka, M., Masaki, H., & Uozumi, T. (1990). Major anthocyanin of the flowers of Hibiscus (*Hibiscus rosa- sinensis* L.). *Agriculture and Biological Chemistry*, *54*, 345-346. https://doi.org/10.1080/00021369.1990.10870458
19. Narjesi, V. (2021). Effects of different shade netting treatments on some quantitative and qualitativec of pomegranate fruits cv. Malas-e- Saveh', *Journal of Agricultural Science and Sustainable Production*, *31*(1), 275-293. https://doi.org/10.22034/saps.2021.12815
20. Sarıbaş, H. Ş., Saka, A. K., & Özer, H. (2018). Mathematical growth model for organically grown pepper transplants. *Biological Agriculture & Horticulture*, *34*(1), 10-17. https://doi.org/10.1080/01448765.2017.1354329
21. Schrader, L. E., Kahn, C., &. Elfving, D. C. (2009). Sunburn browning decreases at-harvest internal fruit quality of apples (*Malus domestica* Borkh.). *International Journal of Fruit Science*, *9*, 425-437. https://doi.org/10.1080/15538360903378781
22. Shahak, Y. (2008). Photo-selective netting for improved performance of horticultural crops. A review of ornamental and vegetable studies carried out in Israel. *Acta Horticultureae*, *770*, 161-168. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2008.770.18
23. Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. S. (1999). Analysis of total phenols and other oxidationsubstrates and antioxidants by mean of folin- ciocalteau reagent. *Methods in Enzymology*, *299*, 152-178. https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1
24. Tinyane, P. P., Soundy, P., & Sivakumar, D. (2018). Growing 'Hass' avocado fruit under different coloured shade netting improves the marketable yield and affects fruit ripening. *Scientia Horticulturae*, *230*(7), 43-49. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.11.020

25. Treder, W., Mika, A., Buler, Z., & Klamkowski, K. (2016). Effects of hail nets on orchard light microclimate, apple tree growth, fruiting and fruit quality. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, *15*(3), 17-27.
26. White, A. L., & Jahnke, L. S. (2002). Contrasting effects of UV-A and UV-B on photosynthesis and photoprotection of carotene in two *Dunaliella* spp. *Plant and Cell Physiology*, *43*, 877–884. https://doi.org/10.1093/pcp/pcf105
27. Yazici, K., Karasahin, I., Sahin, G., Erkan, M., & Kaynak, L. (2005). Effects of kaolin applications and modified atmosphere conditions on protection in pomegranate. (*Punica granatum* L.cv. Hicaznar). III. International Horticultural Crop Protection Congress. Antalya, Turkey. pp. 325-334.
28. Yazici, K., & Kaynak, L. (2006). Effects of kaolin and shading treatment on sunburn on fruit of Hicnazar cultivar of pomegranate (*Punica granatum* L. cv. Hicnazar). *Acta Horticulturae*, *818*, 167-174. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2009.818.24
29. Yazici, K., & Kaynak, L. (2009). Effects of air temperature, relative humidity and solar radiation on fruit surface temperatures and sunburn damage in pomegranate (*Punica granatum* L. cv. Hicaznar). *Acta Horticulturae*, *818*, 181–186. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2009.818.26
30. Zhou, K., Jerszurki, D., Sadka, A., Shlizerman, L., Rachmilevitch, S., & Ephrath, J. (2018). Effects of photoselective netting on root growth and development of young grafted orange trees under semi-arid climate. *Scientia Horticulturae*, *238*, 272-280. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.04.054

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

Research Article
Vol. 40, No. 3, Fall 2026, p. 401-414

Assessment of Physiological and Morphological Traits in Three Groundcover Species for Urban Green Spaces under Drought Stress

M. Ahmadpour[1], A. Mousavi Bazaz[1*], A. Tehranifar[1]

1- Department of Horticultural Science and Landscape Architecture, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
(*- Corresponding author's Email: mousaviba@um.ac.ir)

Received: 19 May 2025
Revised: 08 November 2025
Accepted: 11 November 2025
Available Online: 11 November 2025

How to cite this article:
Ahmadpour, M., Mousavi Bazaz, A., & Tehranifar, A. (2026). Assessment of physiological and morphological traits in three ground cover species for urban green spaces under drought stress. *Journal of Horticultural Science*, *40*(3), 401-414. (In Persian). https://doi.org/10.22067/jhs.2025.93610.1430

Introduction

With respect to the expansion of arid areas and the escalating severity of water scarcity in various parts of the country, it is necessary to identify drought-tolerant groundcover species to replace grass in urban green spaces. This study aimed to research the morphological and physiological reactions of three groundcover species; tall fescue (*Festuca arundinacea*), *Phyla nodiflora*, and *Sedum acre* under various levels of drought stress (20, 40, 60, and 80 % of field capacity). The results demonstrated that as drought stress intensity intensified, root length, fresh and dry weight, relative leaf water content, and chlorophyll *a* and *b* levels decreased significantly, whereas electrolyte leakage increased substantially. The highest shoot length in *Festuca* was observed at 80% of field capacity (13.5 cm), But in *Phyla*, the highest growth was achieved at a moisture level of 60% (17 cm), which had a significant difference at the 5% probability level with the 80% level (14 cm). The *Phyla* species was superior in most physiological and functional traits, the highest amount of chlorophyll *a* and chlorophyll *b* was observed for this species at a moisture level of 20%. While for the other two species, the highest value was observed at a moisture level of 60%. *Sedum* spp. showed the most stress symptoms under conditions of increased irrigation period, considering its root structure and function. Overall, the results of this study showed that *Phylla nodiflora* can be a suitable alternative to grass in urban green space design in dry areas as a resistant species with low water requirements.

Materials and Methods

The experiment was performed under greenhouse conditions at the Ferdowsi University of Mashhad (36°20′N, 59°39′) to assess drought stress responses among groundcover species that were chosen for this study. Seeds of *F. arundinacea* were planted in a pot, while *Phyla nodiflora* and *Sedum acre* were propagated from cuttings with uniform root systems. A completely randomized design was utilized, involving four irrigation levels (20%, 40%, 60%, and 80% of field capacity) and three replications for each species. Treatment for the drought commenced once the area was fully established and persisted for 75 days. Characteristics such as shoot height, root length, and fresh and dry biomass, along with physiological properties like relative water content and electrolyte leakage, and biochemical markers including chlorophyll *a* and chlorophyll *b*, were evaluated at the experiment's conclusion. Measurements of relative water content (RWC) and electrolyte leakage (EL) were carried out using established procedures (Yang et al., 2021; Samieiani, 2012), while pigment contents were determined via spectrophotometry (Lichtenthaler, 1987). The daily water usage was calculated through

Authors retain the copyright. This is an open access article distributed under Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0).
https://doi.org/10.22067/jhs.2025.93610.1430

weighing, followed by ANOVA and LSD test analysis conducted at a 5% significance level within Minitab 22, with the graphs produced using Excel software.

Results and Discussion

Analysis of variance revealed that drought stress significantly affected all morphological traits of *Festuca* and *Sedum* at the 1% probability level, and most traits of *Phyla* at either 1% or 5%. The greatest shoot length in *Festuca* was recorded under 80% field capacity (FC), not significantly different from 60% FC, while *Phyla* showed its maximum shoot length at 60% FC, with a significant decline under both milder and more severe stress. In all species, minimum shoot length occurred at 20% FC. Root length followed a similar trend, decreasing with increasing drought intensity. *Festuca* showed the highest root length under 80% FC, whereas *Sedum* and *Phyla* exhibited variable responses among stress levels. Root fresh weight was highest at 80% FC in all species and declined significantly under increased drought stress. Compared with control conditions, reductions in root fresh weight at 60% FC were 7% for *Festuca*, 9.5% for *Sedum*, and an increase of 72.5% for *Phyla*, indicating differential tolerance. Similarly, shoot fresh weight decreased with increasing stress in *Festuca* and *Sedum*, while *Phyla* reached its maximum value at 60% FC. Relative water content (RWC) declined with higher stress intensity, with the greatest reductions observed under 20% FC (reductions of 51.72%, 62.12%, and 49.6% *for Festuca, Sedum,* and *Phyla*, respectively). Electrolyte leakage increased significantly with stress severity, reaching maximum values of 44%, 62%, and 57% in *Festuca*, *Sedum*, and *Phyla* under 20% FC. Chlorophyll *a* and *b* contents showed variable patterns across species. In *Festuca* and *Sedum*, maximum chlorophyll *a* and *b* occurred at 60% FC, while in *Phyla*, the highest values were observed under severe drought stress (20% FC). These differences suggest species-specific physiological adjustment mechanisms under water deficit conditions.

Conclusion

The groundcover species examined in this study responded differently to drought stress. *Phyla nodiflora* performed better in most physiological and morphological parameters with notable tolerance to water deficit stress. On the other hand, *Sedum acre* was the most sensitive plant to drought. As drought severity increased, key parameters such as root length, fresh biomass, relative water content of leaves, and chlorophyll content decreased, whereas electrolyte leakage increased. These findings reinforce the importance of utilizing drought-tolerant species like *Phyla nodiflora* for future sustainable urban landscape design. Replacement of high-water-demand lawns with such robust groundcovers can help significantly in the preservation of water resources. However, more studies need to be carried out to find out the long-term adaptation and adaptability of these species under diverse weather and irrigation regimes.

Acknowledgment

We would like to express my appreciation for the financial support provided by Ferdowsi University of Mashhad for conducting this research.

Keywords: *Festuca arundinacea, Phyla nodiflora, Sedum acre,* Lawn, Urban landscape

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

مقاله پژوهشی

جلد ۴۰، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۵، ص. ۴۱۴-۴۰۱

مطالعه شاخص‌های فیزیولوژیک و مورفولوژیک در سه گونه پوششی فضای سبز شهری در شرایط تنش خشکی

محمد احمدپور[۱]- آزاده موسوی بزاز[۱*]- علی تهرانی فر[۱]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۲/۲۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۸/۲۰

چکیده

با توجه به گسترش روزافزون مناطق خشک و تشدید بحران کم‌آبی در مناطق مختلف کشور، شناسایی گونه‌های پوششی مقاوم به خشکی برای جایگزینی چمن در فضای سبز شهری ضروری است. این پژوهش با هدف بررسی واکنش‌های ریخت‌شناختی و فیزیولوژیکی سه گونه پوششی شامل چمن فستوکا بلند' (*Festuca arundinacea*)، 'فیلا' (*Phyla nodiflora*) و 'سدوم گرزی' (*Sedum acre*) تحت سطوح مختلف تنش خشکی (۲۰، ۴۰، ۶۰ و ۸۰ درصد ظرفیت زراعی) انجام شد. نتایج نشان داد که با افزایش شدت تنش خشکی، صفاتی مانند طول ریشه، وزن تر و خشک، محتوای نسبی آب برگ و کلروفیل‌های *a* و *b* به‌طور معنی‌داری کاهش یافتند، درحالی‌که نشت الکترولیت به‌طور چشمگیری افزایش پیدا کرد. بیشترین طول اندام هوایی در 'فستوکا' در سطح ۸۰ درصد ظرفیت زراعی (۱۳/۵ سانتی‌متر) مشاهده شد، امّا در 'فیلا' بیشترین رشد در سطح رطوبتی ۶۰ درصد (۱۷ سانتی‌متر) به دست آمد که اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد با سطح ۸۰ درصد (۱۴ سانتی‌متر) داشت. گونه 'فیلا' در اغلب صفات فیزیولوژیکی و عملکردی برتری داشت، بیشترین میزان کلروفیل a و b برای این گونه در سطح رطوبت ۲۰ درصد مشاهده شد، درحالی‌که برای دو گونه دیگر، بیشترین مقدار در سطح رطوبت ۶۰ درصد مشاهده شد. گیاه 'سدوم گرزی' با توجه به ساختار و عملکرد ریشه، در شرایط افزایش دوره آبیاری، بیشترین علائم تنش را از خود نشان داد. به‌طورکلی، نتایج این پژوهش نشان داد که 'فیلا' می‌تواند به‌عنوان گونه‌ای مقاوم و کم‌نیاز به آب، جایگزینی مناسب برای چمن در طراحی فضای سبز شهری مناطق خشک باشد.

واژه‌های کلیدی: چمن، سدوم گرزی، فستوکا بلند، فیلا، منظر سبز شهری

مقدمه

بحران کم‌آبی که در نتیجه عواملی نظیر رشد جمعیت و تغییرات اقلیمی تشدید شده (Eidi et al., 2021)، به یکی از مهم‌ترین چالش‌های قرن حاضر بدل شده است (Harper et al., 2020). کشور ایران با متوسط بارندگی سالانه ۲۵۰ میلی‌متر، در شمار کشورهایی با اقلیم خشک و نیمه‌خشک جهان قرار می‌گیرد که نیازمند مدیریت دقیق منابع آبی است (Ebrahimian & Kazemi, 2017). تنش خشکی زمانی رخ می‌دهد که جذب آب کمتر از تبخیر باشد، که این امر بر فتوسنتز و رشد گیاه تأثیر منفی می‌گذارد (Ghorbani et al., 2022). این تنش بیشتر از بیماری‌ها به کشاورزی آسیب می‌زند (Gupta, 2020). در ایران که ۷۵ درصد اقلیم آن خشک و نیمه‌خشک است، انتخاب گیاهان مقاوم به خشکی ضروری به نظر می‌رسد (Mirzaei Hassanlou et al., 2024). از طرفی، فضاهای سبز شهری، نقش بی‌بدیلی در ارتقای کیفیت زندگی، کاهش دمای محیط، تلطیف هوا و افزایش سلامت روانی شهروندان دارند (Shiravand, 2012)، توسعه آن‌ها نه‌تنها یک ضرورت زیست‌محیطی بلکه یک اولویت اجتماعی و فرهنگی محسوب می‌شود (Hatami Nezhad & Omranian, 2010). مطابق با استانداردهای سازمان ملل، سرانه فضای سبز برای هر فرد باید ۲۰ تا ۲۵ مترمربع باشد (Vahdati et al., 2015). گیاهان زمین‌پوش با گستردگی افقی مناسب و مقاومت زیاد به خشکی، گزینه‌هایی مناسب برای تحقق این هدف هستند. گیاهان پوششی با بهبود خواص فیزیکی، شیمیایی و

۱- گروه علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

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

https://doi.org/10.22067/jhs.2025.93610.1430

زیستی خاک، تأمین مواد غذایی، کاهش فرسایش و سرکوب علف‌های هرز، نقش کلیدی در کشاورزی پایدار و فضای سبز دارند (Willson & Slocum, 2017; Blanco-Canqui et al., 2015)، همچنین با تولید زیست‌توده زیاد و بسته شدن سریع تاج‌پوشش، رشد علف‌های هرز را محدود می‌کنند (Linares et al., 2008). چمن‌ها به‌ویژه چمن‌های زینتی (Lawn)، به‌دلیل تحمل پاخوری و قابلیت چمن‌زنی، در فضای سبز شهری کاربرد گسترده‌ای دارند (Talebi, 2012; Ghorbani, 2021). چمن اگرچه از نظر سرعت استقرار اهمیت دارد (Mousavi Bazaz, 2015)، امّا به‌دلیل مصرف بالای آب و نیاز به نگهداری مستمر، گزینه‌ای ناکارآمد در شرایط کنونی اقلیمی محسوب می‌شود (Shushtarian et al, 2011). از جمله راهکارهای پیشنهادی برای حل این مشکل، استفاده از شیوه‌های نوین مانند اصلاح خاک، کاربرد مالچ و طراحی دقیق آبیاری مکانیزه توصیه می‌شود (Ferrini et al., 2008). برای مقابله با تنش خشکی، بهره‌گیری از سیستم‌های آبیاری هدفمند و نوین نظیر آبیاری زیرسطحی و استفاده از مواد جاذب رطوبت در خاک نیز می‌تواند اثربخش باشد (Azadifar et al., 2024). همچنین طراحی زون‌بندی‌شده فضاهای سبز براساس نیاز آبی گونه‌ها نیز توصیه شده است (Shirinzadeh et al., 2022). یکی از مهم‌ترین راهکارهای پیشنهادی، جایگزینی چمن پُرمصرف با گونه‌های بومی و مقاوم به خشکی از جمله گیاهان پوششی جایگزین چمن در فضای سبز شهری است (Karimian, 2019). گراس‌های بومی ایران از مقاومتی خوبی در مقابل تنش خشکی برخوردارند و این گیاهان بومی توانایی مناسبی در جهت اصلاح و توسعه استفاده در شرایط خشکی را فراهم می‌سازند (Gazanchian et al., 2006). گیاهان پوششی از جمله گونه‌های کم‌ارتفاع مانند فرانکینیا[1]، لیزوماکیا [2]و آویشن خزنده[3]، نقش مهمی در پوشش خاک و کاهش فرسایش ایفا می‌کنند و سبب بهبود کیفیت خاک می‌شوند (Willson & Slocum, 2017)، این گیاهان با ایجاد لایه‌ای متراکم، زیستگاه مناسبی برای حشرات فراهم کرده و نیاز به نگهداری کمتری نسبت به چمن دارند (Esmaeili et al., 2017). در بررسی انجام‌شده روی تأثیرات تنش کم‌آبی بر چند ویژگی کمّی و کیفی در چهار گیاه پوششی با نام‌های پنج‌انگشت[4]، فرانکینیا[5]، چمن لولیوم چندساله[6] و شبدر سفید[7] مشاهده گردید که گونه‌های فرانکینیا، پنج انگشت و شبدر سفید، مقاومت مناسبی را نسبت به تنش خشکی نشان دادند، درحالی‌که چمن لولیوم چندساله از نظر ویژگی‌های اندام زیرزمینی مقاومت خوب و کافی نسبت به تنش نداشت و مناسب شرایط تنش خشکی نبود (Samieiani et al., 2013). گونه‌های ناز یخی[8]، دم‌عقربی[9] و فرانکنیا برای استفاده و کاشتن در فضای سبز با اقلیم‌های گرم و خشک مناسب بودند (Shushtarian et al., 2011). گونه آویشن دنایی [10] نسبت به آویشن باغی [11] می‌تواند رشد موفقیت‌آمیزی بهتری در مناطق اقلیمی خشک و نیمه‌خشک داشته باشد و برای کاشت در این مناطق توصیه می‌گردد (Askari et al., 2017 ; Yousepzadeh, 2015). گونه‌های گل یخ (ناز یخی) و دم عقربی مقاومت خوبی نسبت به تنش کم‌آبی در بین چهار نوع گیاه پوششی پنج‌انگشت، دم‌عقربی، ناز یخ و فرانکینیا از خود نشان دادند (Elhami, 2016). هدف این پژوهش، ارزیابی عملکرد چند گونه گیاه پوششی به‌منظور جایگزینی با چمن در فضای سبز شهری، با تأکید بر کاهش مصرف آب و ارتقای تنوع گیاهی در کاربرد زمین‌پوش‌ها است.

مواد و روش

پژوهش حاضر در گلخانه پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد، واقع در طول جغرافیایی ۳۹′۵۹° شرقی و عرض جغرافیایی ۲۰′۳۶° شمالی، در مرداد ماه سال ۱۴۰۳ صورت پذیرفت و پس از استقرار کامل گیاهان، دوره اعمال تنش خشکی و بررسی صفات به‌مدت ۷۵ روز ادامه یافت.

مواد گیاهی

ابتدا گلدان سطل ۱۰، با قطر دهانه داخلی ۲۴ و ارتفاع ۲۳/۵ سانتی‌متر با وزن ۲۷۰ گرم تهیه و جهت تسریع زهکشی و خارج شدن آب از انتهای گلدان‌ها سه سانتی‌متر شن بادامی (گراویه) معادل ۱۰۳۰ گرم ریخته شد، سپس گلدان‌ها از خاک باغچه مشابه به‌میزان ۷۰۰۰ گرم پر شدند. برای بستر کاشت، سطح فوقانی خاک با یک لایه یک سانتی‌متری از خاک‌برگ پوشانده شد.

برای کاشت چمن، در هر گلدان ۱۲ گرم بذر چمن 'فستوکا بلند'[12] استفاده شد. دو گونه پوششی دیگر شامل 'فیلا'[13] و 'سدوم

1- *Frankenia*
2- *Lysimachia*
3- *Thymus praecox*
4- *Potentilla*
5- *Frankenia*
6- *Lolium perenne*
7- *Trifolium repens*

8- *Mesembryanthemum cordifolium*
9- *Carpobrotus acinaciformis*
10- *Thymus daenensis Celak*
11- *Thymus vulgaris*
12- *Festuca arundinacea*
13- *Phyla nodiflora*

گرزی'[1]، از طریق قلمه‌های ریشه‌دارشده‌ای که همگی از یک پایه مادری و تحت شرایط یکسان و در خاک مشابه تهیه شده بودند، کشت گردیدند. این روش با هدف حذف تنوع ژنتیکی و کاهش اثرات ناشی از جهش‌های محیطی انجام گردید. در هر گلدان، دو بوته از گونه پوششی 'سدوم گرزی' و 'فیلا' کاشته شد.

طرح آزمایشی و اعمال تنش

این پژوهش به‌صورت گلدانی و طرح کاملاً تصادفی با چهار سطح رطوبتی و سه تکرار روی گونه‌های گیاهی به‌منظور بررسی خصوصیات و تأثیرات برخی صفات ریخت‌شناختی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در گیاهان معرفی‌شده انجام پذیرفت.

پس از به دست آوردن ظرفیت زراعی در سطوح شدید، متوسط، خفیف و بدون تنش (به‌عنوان شاهد) به‌ترتیب ۲۰، ۴۰، ۶۰ و ۸۰ درصد ظرفیت زراعی، گلدان‌ها به‌صورت روزانه توزین و تا رسیدن به سطح رطوبتی مورد نظر آبیاری گردید.

اندازه‌گیری صفات مورد مطالعه

بررسی صفات ریخت‌شناختی از قبیل طول اندام هوایی و طول ریشه با استفاده از خط‌کش اندازه‌گیری شد. همچنین اندازه‌گیری وزن تر و خشک به‌وسیله ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ صورت گرفت، برای به دست آوردن وزن خشک، ریشه و اندام هوایی در آون ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفت، سپس وزن آن‌ها به‌وسیله ترازو دیجیتال ۰/۰۰۱ اندازه‌گیری شد (Abaszadeh Farouji, 2025). صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی شامل محتوای نسبی آب[2]، نشت الکترولیت، کلروفیل و میزان مصرف آب در انتهای آزمایش اندازه‌گیری گردید. به‌منظور اندازه‌گیری محتوای نسبی آب، نمونه‌ها بعد از توزین و محاسبه وزن تازه برگ (FW) گیاهان، به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر و در دمای چهار درجه سانتی‌گراد غوطه‌ور شدند. بعد از گذشت ۲۴ ساعت، وزن اشباع برگ‌ها (TW) اندازه‌گیری و برگ‌ها به مدت ۲۴ ساعت دیگر در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد در آون قرار گرفتند و وزن خشک (DW) هرکدام اندازه‌گیری شد، سپس با استفاده از معادله ۱، محتوای نسبی آب برگ محاسبه گردید (Yang et al., 2021).

$$RWC\ (\%) = ((FW-DW)) / (TW-DW)) \times 100 \quad (۱)$$

برای محاسبه نشت الکترولیت نیز ابتدا قطعات برگ به ابعاد دو سانتی‌متر تهیه شدند و پس از شست‌وشو با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر، به لوله‌های آزمایش منتقل گردید. سپس لوله‌های آزمایش به مدت ۱۸ ساعت با استفاده از شیکر تکان داده شدند. پس از این مدت، هدایت الکتریکی نمونه‌ها (E_1) با استفاده از دستگاه هدایت‌سنج (Jenway 4510 Conductivity/TDS Meter) اندازه‌گیری شد. به‌منظور کشتن سلول‌ها و آزادسازی کل الکترولیت‌ها، لوله‌های آزمایش به اتوکلاو منتقل شدند و در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شدند. پس از سرد شدن محتویات لوله‌ها، مجدداً هدایت الکتریکی اندازه‌گیری گردید (E_2)، در نهایت، میزان نشت الکترولیت با استفاده از معادله ۲ محاسبه شد (Samieiani, 2013).

$$EL= (E_1 \backslash E_2) \times ۱۰۰ \quad (۲)$$

جهت اندازه‌گیری میزان کلروفیل، ۰/۱ گرم بافت برگ تازه در ۱۰ میلی‌لیتر متانول با استفاده از هاون سائیده و همگن‌سازی شد تا سوسپانسیونی یکنواخت حاصل گردد. سپس مخلوط به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. محلول رویی (سوپرناتانت) جمع‌آوری و جذب نور آن در طول‌موج‌های ۴۷۰، ۶۵۲ و ۶۶۵ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. در نهایت، غلظت کلروفیل براساس روابط ارائه‌شده توسط لیچتنتالر (۱۹۸۷) (معادله‌های ۳ و ۴) محاسبه گردید (Lichtenthaler, 1987).

$$Chl_a = ۱۶/۷۲ \times A_{۶۶۵} - ۹/۱۶ \times A_{۶۵۲} \quad (۳)$$

$$Chl_b = ۳۴/۰۹ \times A_{۶۵۲} - ۱۵/۲۸ \times A_{۶۶۵} \quad (۴)$$

که در آن‌ها، Chl_a: محتوای کلروفیل a و Chl_b: محتوای کلروفیل b است.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

طرح آماری مورد استفاده، طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار بود. تجزیه آماری حاصل از صفات اندازه‌گیری‌شده با استفاده از روش تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها به‌روش آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد، به‌وسیله نرم‌افزار Minitab 22 انجام گردید. همچنین نمودارها با استفاده از نرم‌افزار EXCEL رسم شدند.

نتایج و بحث

صفات ریخت‌شناختی

نتایج تحلیل واریانس صفات ریخت‌شناختی نشان داد که اثر تنش خشکی بر گونه‌های چمن و 'سدوم گرزی در تمامی صفات در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. در گیاه 'فیلا'، تنش خشکی در صفات وزن خشک ریشه و وزن خشک اندام هوایی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار و در صفات طول اندام هوایی و طول ریشه در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شد (جدول ۱، جدول ۲ و جدول ۳).

1- *Sedum acre*
2- RWC

جدول ۱- جدول تجزیه واریانس میانگین مربعات صفات ریخت‌شناختی در گیاه چمن فستوکا بلند

Table 1– Analysis of variance (ANOVA) for mean squares of morphological traits in tall fescue (*Festuca arundinacea*)

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	وزن تر اندام هوایی Shoot fresh weight	وزن تر ریشه Root fresh weight	طول ریشه Root length	طول اندام هوایی shoot lenght
تنش خشکی Drought	3	650.8**	1292.52**	2.4578**	18.10**
خطا Erorr	8	70.48	17.22	0.1767	0.825

**: تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد.

**: significant at the 1% of probability level

جدول ۲- جدول تجزیه واریانس میانگین مربعات صفات ریخت‌شناختی در گیاه سدوم گرزی

Table 2– Analysis of variance (ANOVA) for mean squares of morphological traits in goldmoss stonecrop

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	وزن تر اندام هوایی Shoot fresh weight	وزن تر ریشه Root fresh weight	طول ریشه Root length
تنش خشکی Drought	3	557.28**	1.06066**	23.5744**
خطا Erorr	8	50.11	0.00192	0.1842

**: تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد.

**: significant at the 1% of probability level

جدول ۳- جدول تجزیه واریانس میانگین مربعات صفات ریخت‌شناختی در گیاه فیلا

Table 3– Analysis of variance (ANOVA) for mean squares of morphological traits in frogfruit.

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	وزن تر اندام هوایی Shoot fresh weight	وزن تر ریشه Root fresh weight	طول ریشه Root length	طول اندام هوایی shoot lenght
تنش خشکی Drought	3	375.43**	28.039**	9.054*	11.221*
خطا Erorr	8	42.72	1.048	1.624	1.681

*: تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد؛ **: تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد.

*: significant at the 5% of probability level; **: significant at the 1% of probability level

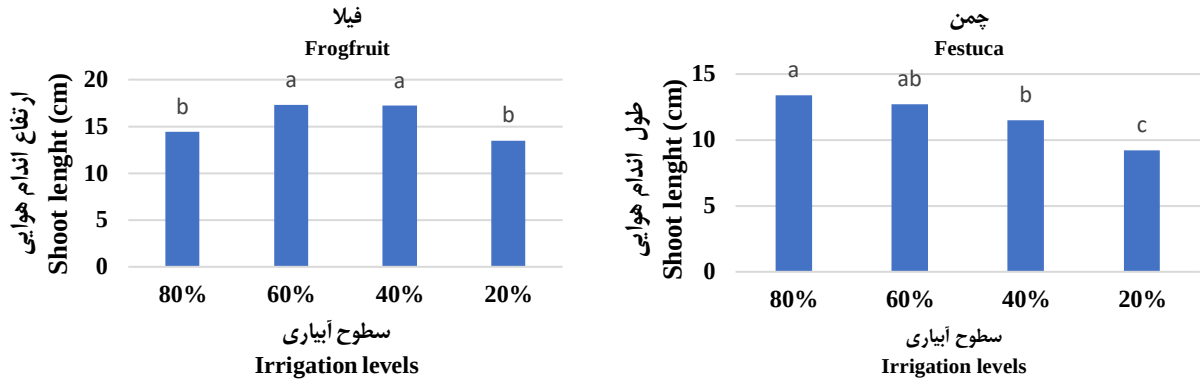
طول اندام هوایی

نتایج حاصل از مقایسه میانگین این صفت نشان داد که بیشترین طول اندام هوایی در گیاه چمن در سطح شاهد (۸۰ درصد رطوبت) بود که با سطح تنش در ظرفیت ۶۰ درصد تفاوت معنی‌داری نداشت، امّا در گیاه 'فیلا' بیشترین طول اندام هوایی در سطح ۶۰ درصد رطوبت مشاهده شد که با سطح تنش خفیف‌تر و شدیدتر خود اختلاف معنی‌داری داشت، همچنین کمترین میزان طول اندام هوایی در هر دو گیاه مربوط به بیشترین سطح تنش، ۲۰ درصد رطوبت بوده است. در گونه 'سدوم گرزی' به‌علت ماهیت رشد آن، این صفت در این گیاه قابل ارزیابی نبود (شکل ۱). در پژوهش سایر محققان نیز بیان شده است که با افزایش میزان تنش خشکی در گیاه، کاهش طول ساقه مشاهده گردید که با نتایج این مطالعه سازگار بود (Ahmadi Azar et al., 2015). کاهش تورژسانس و کاهش پتانسیل آب در بافت‌های گیاهی می‌تواند نشانه‌ای از ظهور تنش خشکی باشد که موجب تأثیر سوء بر اندازه نهایی و رشد سلول شود (Heydari et al., 2014). این پژوهش نشان داد که گونه‌های گیاهی بسته به توان تحمل و سازگاری‌شان به‌شکل متفاوتی به تنش آبی واکنش نشان می‌دهند و کاهش رشد طولی به‌عنوان سازوکاری برای کاهش تعرق و صرفه‌جویی در مصرف آب عمل می‌کند.

خشکسالی باعث تغییرات ریخت‌شناختی در چمن مانند کاهش رشد رویشی و طول گیاه و همچنین شاخص‌های فیزیولوژیکی مانند کاهش سرعت فتوسنتز، کارآیی مصرف آب و هدایت روزنه‌ای می‌شود و در نهایت ساختار آناتومیکی ساقه و ریشه را تغییر می‌دهد (Noor et al., 2024).

طول ریشه

بیشترین اندازه طول ریشه در گیاه چمن، متعلق به کمترین سطح تنش، ۸۰ درصد ظرفیت زراعی بود و همسو با افزایش شدت تنش میزان طول ریشه کاهش یافت، در گیاه 'سدوم گرزی' به‌ترتیب سطوح تنشی اول، سوم، چهارم قرار داشت، درحالی‌که در گیاه 'فیلا' به‌ترتیب سطوح دوم، سوم، اول و چهارم بود (شکل ۲). از عوامل مهم در میزان جذب آب، ابعاد ریشه است، لذا گسترش طول ریشه به‌معنای افزایش سطح تماس و بهره‌وری در جذب آب و مواد غذایی موجود در خاک است، خشکی بر ویژگی‌های فیزیولوژیک گیاه اثرگذار است و باعث کاهش رشد ریشه و عملکرد گیاه می‌شود (Ezzati et al., 2024). نفوذ بیشتر ریشه باعث بهبود امکان جذب آب و به تبع آن افزایش مقاومت و تحمل بیشتر گیاه در شرایط کم آبیاری می‌شود (Li et al., 2019). در این آزمایش، گونه 'سدوم گرزی' با داشتن کمترین طول ریشه در بین سایر گیاهان در مواجهه با تنش خشکی بیشترین حساسیت را از خود در صورت افزایش فاصله میان دوره‌های آبیاری نشان داد.

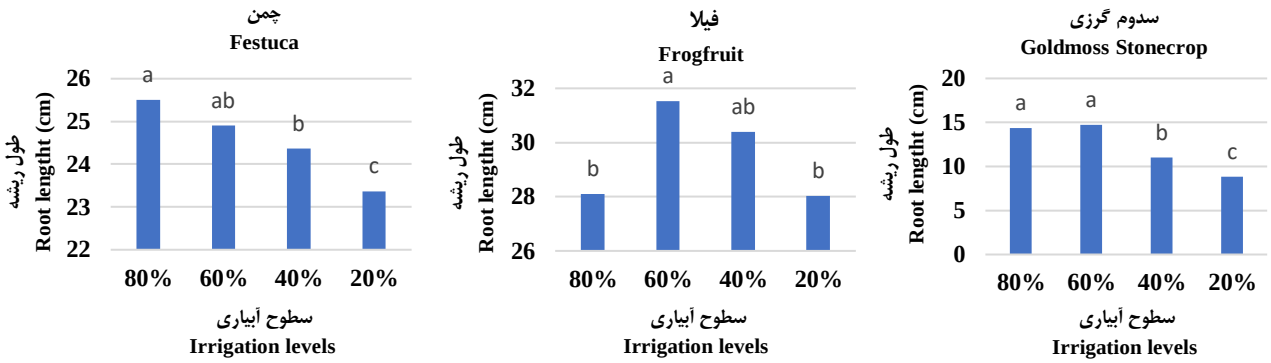


شکل ۱- مقایسه میانگین طول اندام هوایی در گیاهان چمن و فیلا

Figure 1- Comparison of shoot lenght in tall festuca and frogfruit plants

حروف مشابه در سطح احتمال پنج درصد با یکدیگر تفاوت معنی‌دار ندارند.

Similar letters have no significant difference at 5% probability.



شکل ۲- مقایسه میانگین طول ریشه در گیاهان چمن، سدوم گرزی، وینکا و فیلا

Figure 2– Comparison of the mean root lenght in tall festuca, goldmoss stonecrop and frogfruit plants

حروف مشابه در سطح احتمال پنج درصد با یکدیگر تفاوت معنی‌دار ندارند.

similar letters have no significant difference at 5% probability.

وزن تر ریشه

نتایج تجزیه و تحلیل آماری برای صفت وزن تر ریشه در گیاهان 'فستوکا بلند' و 'سدوم گرزی' نشان داد که بیشترین مقدار این صفت مربوط به سطح ۸۰ درصدی ظرفیت زراعی بود. با افزایش شدت تنش خشکی، وزن تر ریشه به‌صورت نزولی تغییر یافت و بین تمام سطوح تنش تفاوت معنی‌داری مشاهده شد. به‌طوری که در وضعیت شاهد (FC 80%) در مقایسه با سطح دوم تنش (FC 60%)، درصد تغییرات وزن تر ریشه برای گیاهان 'فستوکا بلند'،

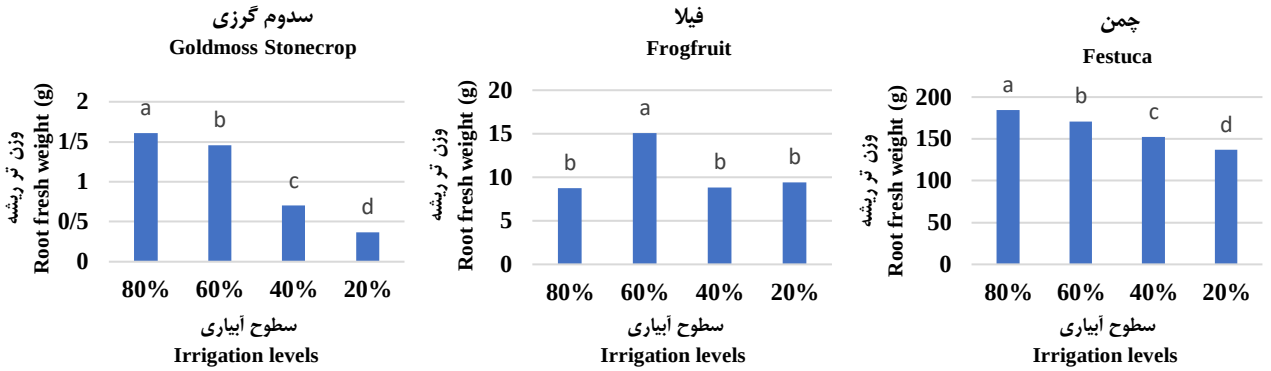
'سدوم گرزی' و 'فیلا' به‌ترتیب برابر با ۷- ،۹/۵- و ۷۲/۵+ درصد بود (شکل ۳)، وزن ریشه از شاخص‌های مهم برای ارزیابی جذب آب در شرایط خشکی محسوب می‌شود و ممکن است ممکن است به‌دلیل تفاوت در حساسیت به اسید آبسزیک و تنظیم اسمزی، در شرایط خاص تنش خشکی افزایش یابد (Samieiani, 2013).

براساس نتایج این آزمایش، با تشدید تنش خشکی، گونه سدوم گرزی، کاهش قابل توجهی در وزن تر ریشه از خود نشان داد که این امر حساسیت بالای این گونه به کاهش تناوب آبیاری را تأیید می‌کند.

وزن تر اندام هوایی

نتایج تجزیه و تحلیل آماری برای وزن تر اندام هوایی در گیاهان 'فستوکا بلند' و 'سدوم گرزی' نشان داد که با تشدید تنش خشکی، وزن تر اندام هوایی روند نزولی خواهد داشت، این کاهش، نسبت به سطح اول تنش در گیاه 'سدوم گرزی' معنی‌دار و در گیاه 'فستوکا بلند' غیر معنی‌دار بود. در مقابل، در گونه 'فیلا'، بیشترین میزان وزن تر اندام هوایی در تنش ۶۰ درصد ظرفیت زراعی وجود داشت (شکل ۴).

وزن تر اندام هوایی در شرایط آبیاری کامل گاهی کمتر از شرایط کم‌آبیاری بود که این موضوع به دو عامل نسبت داده می‌شود: سازگاری اکوفیزیولوژیکی گیاه با کم‌آبی و اختلالات ناشی از تنش غرق‌آبی مانند کاهش جذب عناصر غذایی و فعالیت تنفسی (Elhami, 2016).کاهش زیست‌توده اندام هوایی در شرایط تنش خشکی شدید، پدیده‌ای اجتناب‌ناپذیر و در عین حال یک سازوکار سازگاری حیاتی برای گیاهان محسوب می‌شود (Gazanchian et al., 2006).

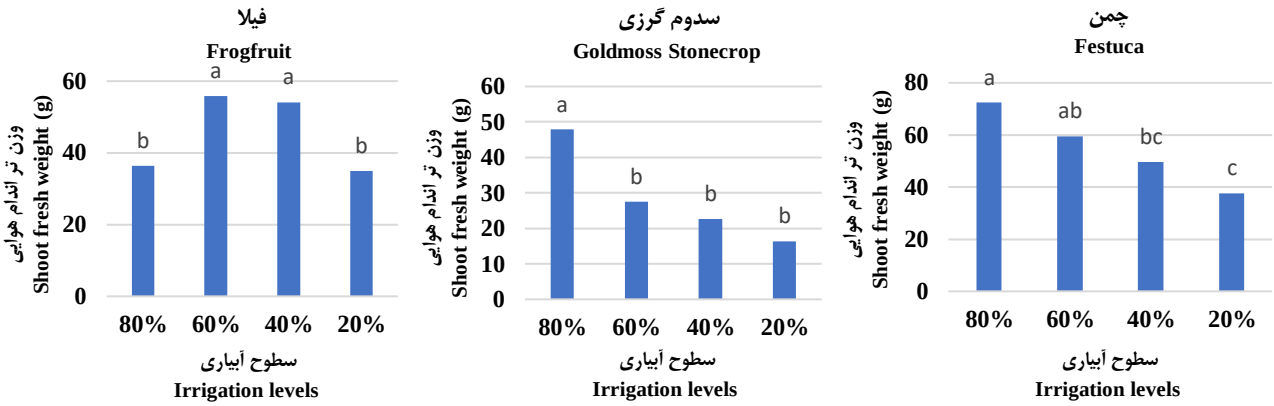


شکل ۳- مقایسه میانگین وزن تر ریشه در گونه‌های چمن، سدوم گرزی و فیلا

Figure 3– Comparison of the mean root fresh weight in tall festuca, goldmoss stonecrop and frogfruit plants

حروف مشابه در سطح احتمال پنج درصد با یکدیگر تفاوت معنی‌دار ندارند.

Similar letters have no significant difference at 5% probability.



شکل ۴- مقایسه میانگین وزن تر اندام هوایی در گیاهان چمن، سدوم گرزی و فیلا

Figure 3– Comparison of the mean shoot fresh weight in tall festuca, goldmoss stonecrop and frogfruit plants

حروف مشابه در سطح احتمال پنج درصد با یکدیگر تفاوت معنی‌دار ندارند.

similar letters have no significant difference at 5% probability.

صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی

نتایج تحلیل واریانس داده‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی نشان داد که تنش خشکی در سطح احتمال یک درصد بر تمامی صفات اندازه‌گیری‌شده در گیاهان 'سدوم گرزی' و 'فیلا' تأثیر معنی‌داری داشت. در گیاه چمن نیز تنش خشکی بر تمامی صفات به‌جز کلروفیل a، در سطح یک درصد معنی‌دار بود، امّا برای صفت مورد اشاره این تأثیر در سطح پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۴، جدول ۵ و جدول ۶).

جدول ۴- جدول تجزیه واریانس میانگین مربعات صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در گیاه چمن

Table 4– Analysis of variance (ANOVA) for mean squares of physiological and biochemicaltraits in tall fescue grass

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	کلروفیل b Chlorophyll b (mg.g^{-1} FW)	کلروفیل a Chlorophyll a (mg.g^{-1} FW)	نشت الکترولیت Electrolyte leakage (%)	محتوای نسبی آب RWC (%)
تنش خشکی Drought	3	12.6893**	1.1804*	1119.23**	1326.44**
خطا Erorr	8	0.7179	0.1692	16.51	6.92

*: تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد؛ **: تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد.

*: significant at the 5% of probability level; **: significant at the 1% of probability level.

جدول ۵- جدول تجزیه واریانس میانگین مربعات صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در گیاه سدوم گرزی

Table 5– Analysis of variance (ANOVA) for mean squares of physiological and biochemicaltraits in goldmoss stonecrop

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	کلروفیل b Chlorophyll b (mg.g^{-1} FW)	کلروفیل a Chlorophyll a (mg.g^{-1} FW)	نشت الکترولیت Electrolyte leakage (%)	محتوای نسبی آب RWC (%)
تنش خشکی Drought	3	0.601833**	0.980498**	537.454**	1990.31**
خطا Erorr	8	0.000535	0.000169	1.335	2.17

**: تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد.

**: significant at the 1% of probability level.

جدول ۶- جدول تجزیه واریانس میانگین مربعات صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در گیاه فیلا

Table 6– Analysis of variance (ANOVA) for mean squares of physiological and biochemicaltraits in frogfruit

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	کلروفیل b Chlorophyll b (mg.g^{-1} FW)	کلروفیل a Chlorophyll a (mg.g^{-1} FW)	نشت الکترولیت Electrolyte leakage (%)	محتوای نسبی آب RWC %
تنش خشکی Drought	3	8.12091**	13.1997**	830.042**	1242.97**
خطا Erorr	8	0.00034	0.0001	2.009	20.25

**: تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد.

**: significant at the 1% of probability level.

محتوای نسبی آب

نتایج حاصل از مقایسه میانگین برای این صفت نشان داد که بیشترین محتوای نسبی آب برگ در گیاهان 'فستوکا بلند'، 'سدوم گرزی' و 'فیلا' مربوط به سطح ۸۰ درصد ظرفیت زراعی (FC 80%) بود و بین سطوح اول و دوم اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. همچنین به‌طورکلی در همه گیاهان با تشدید تنش خشکی، مقدار محتوای نسبی آب برگ کاهش یافت و کمترین میزان این صفت برای همه گیاهان در بیشترین سطح تنش مشاهده شد، همچنین میزان محتوای نسبی آب برگ در کمترین سطح تنش نسبت به حداکثر آن در گیاهان 'فستوکا بلند'، 'سدوم گرزی' و 'فیلا' به‌ترتیب ۵۱/۷۲، ۶۲/۱۲ و ۴۹/۶ درصد کاهش یافت (شکل ۵). کاهش محتوای نسبی آب برگ نشان‌دهنده حساسیت گیاه به تنش خشکی است. این شاخص میزان شادابی گیاه و توانایی آن در حفظ آب تحت تنش را نشان می‌دهد؛ مقدار بالاتر آن بیانگر مقاومت بیشتر گیاه در شرایط کم‌آبی است (Abbaszadeh et al., 2008) که در ادامه باعث بسته شدن روزنه‌های برگی و در نتیجه کاهش فتوسنتز

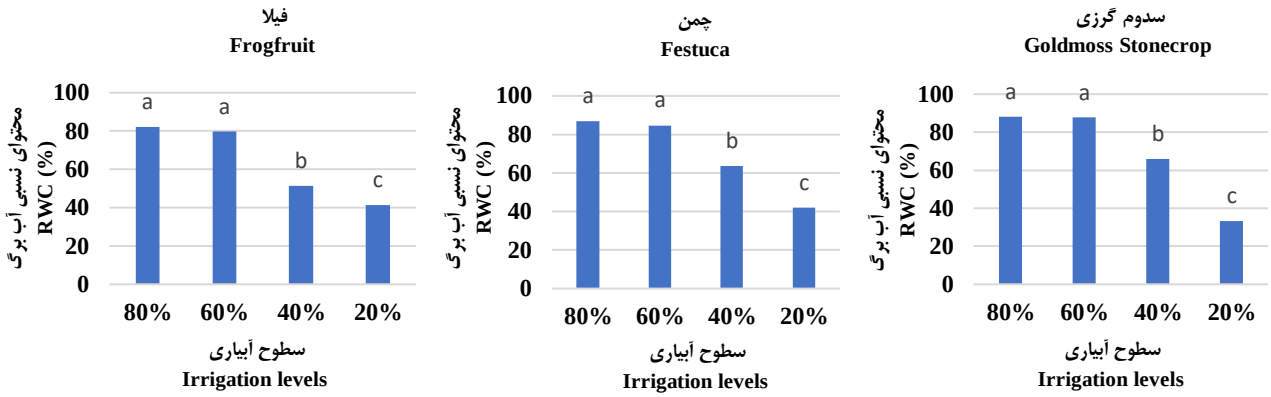
گیاه می‌شود (Kafashzade et al., 2024). بالا بودن محتوای نسبی آب در تنش‌های خشکی می‌تواند بیانگر سازگاری گیاه و جلوگیری از از دست رفتن آب درون برگی نیز باشد (Heydari et al., 2014). نتایج این پژوهش با نتایج سلاحورزی و همکاران (Salahvarzi et al., 2008) در خصوص چند نوع چمن، کفاش زاده و همکاران (Kafashzade et al., 2024)، بر روی اثر کم‌آبیاری در چند گونه شبدر و الهامی (Elhami, 2016) روی چهار گونه پوششی مطابقت داشت.

نشت الکترولیت

براساس نتایج مقایسه میانگین‌ها، با افزایش شدت تنش خشکی، میزان نشت الکترولیت به‌طور معناداری افزایش یافت (شکل ۶). در تمام گونه‌های مورد بررسی، بیشترین میزان نشت الکترولیت در سطح تنش شدید خشکی (۲۰ درصد ظرفیت زراعی) مشاهده شد که به‌ترتیب برای گیاهان 'فیلا'، 'سدوم گرزی' و 'فستوکا بلند' میانگین آن‌ها عبارت بود از: ۵۷، ۶۲ و ۴۴ درصد. پایداری غشای سلولی به‌عنوان عامل کلیدی در تحمل به خشکی شناخته می‌شود، شاخص نشت الکترولیت معیاری معتبر از آسیب غشایی است، به‌طوری که افزایش نفوذپذیری غشا منجر به خروج مواد محلول از درون سلول می‌شود (Elhami, 2016)، حفظ عملکردهای حیاتی گیاه از جمله ظرفیت فتوسنتزی و فعالیت‌های متابولیک ضروری برای رشد در شرایط تنش آبی شدید، مستلزم حفظ تمامیت ساختاری و پایداری غشای سلولی است. در نتیجه، تنش خشکی باعث افزایش نشت الکترولیت می‌شود که منجر به افزایش آسیب‌های سلولی و کاهش توان عملکردی گیاه می‌گردد (Sadat-Firouznia et al., 2021).

کلروفیل a

نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها (شکل ۷) نشان داد که در گیاه چمن، بیشترین مقدار این صفت در سطح ۶۰ درصد ظرفیت زراعی با مقدار ۱۱/۵۷ mg/g FW مشاهده شد و پس از آن، به‌ترتیب سطوح ۸۰ درصد ظرفیت زراعی و ۴۰ درصد ظرفیت زراعی قرار گرفتند، درحالی‌که کمترین میزان این صفت در سطح چهارم تنش۲۰ درصد ظرفیت زراعی (۱۰.۲۱mg/g FW) ثبت شد و تفاوت معنی‌داری با یکدیگر داشتند. در گونه‌ی سدوم گرزی'، سطوح ۶۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ درصد ظرفیت زراعی به‌ترتیب بیشترین مقادیر این صفت را (به‌ترتیب با میانگین mg/g FW ۵.۲۵، ۴.۹۶، ۴.۶۳ و ۴) نشان دادند (شکل ۷) و تفاوت معنی‌داری در سطوح مختلف با یکدیگر داشتند. در گیاه 'فیلا'، بیشترین میزان کلروفیل a ۲۰ در درصد ظرفیت زراعی مشاهده شد و پس از آن، به‌ترتیب سطوح ۴۰، ۶۰ و ۸۰ درصد سوم، دوم و اول قرار داشتند. در برخی گیاهان، کاهش مقدار پیگمان‌های کلروفیل a به‌عنوان یک سازوکار حفاظت نوری عمل می‌کند. این فرآیند با کاهش جذب نور، به محافظت از زنجیره فتوسنتزی گیاه کمک می‌کند (Salehi Shanjani et al., 2015). میزان کلروفیل در گیاهان زنده، یکی از عوامل کلیدی در حفظ ظرفیت فتوسنتزی است. به نظر می‌رسد که کاهش میزان کلروفیل a در اثر تنش خشکی، ناشی از افزایش تولید رادیکال‌های اکسیژن باشد (Abbaszadeh et al., 2008).

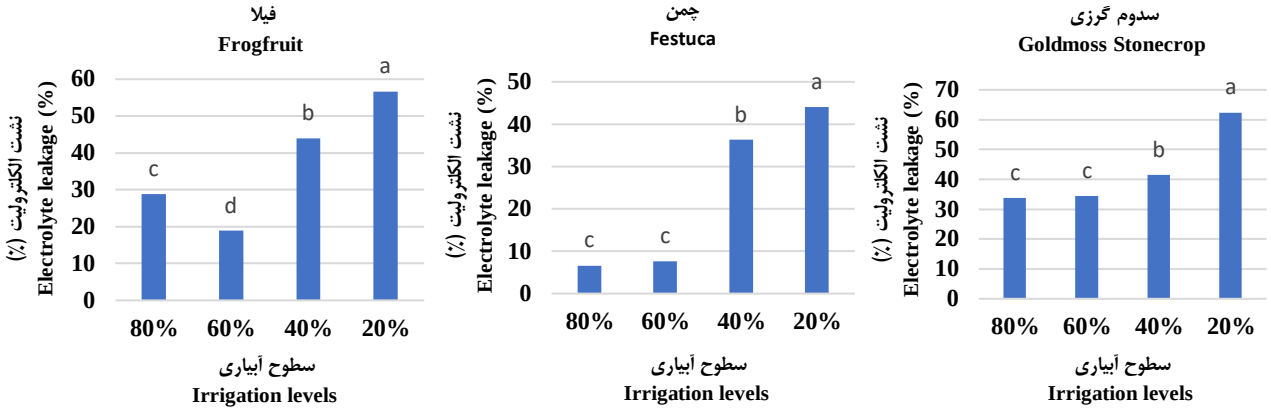


شکل ۵- مقایسه میانگین محتوای نسبی آب در گیاهان چمن، سدوم گرزی و فیلا

Figure 5– Comparison of the mean RWC in tall festuca, goldmoss stonecrop and frogfruit plants

حروف مشابه در سطح احتمال پنج درصد با یکدیگر تفاوت معنی‌دار ندارند.

Similar letters have no significant difference at 5% probability.

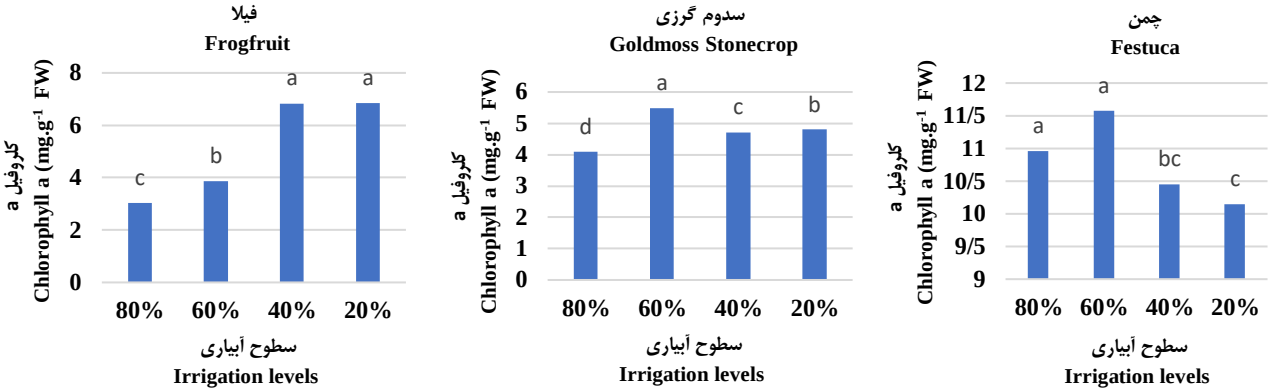


شکل ۶- مقایسه میانگین نشت الکترولیت در گیاهان چمن، سدوم گرزی و فیلا

Figure 6– Comparison of the mean EL in tall festuca, goldmoss stonecrop and frogfruit plants

حروف مشابه در سطح احتمال پنج درصد با یکدیگر تفاوت معنی‌دار ندارند.

Similar letters have no significant difference at 5% probability.



شکل ۷- مقایسه میانگین کلروفیل a در گیاهان چمن، سدوم گرزی و فیلا

Figure 7– Comparison of the mean chlorophyll a in tall festuca, goldmoss stonecrop and frogfruit plants

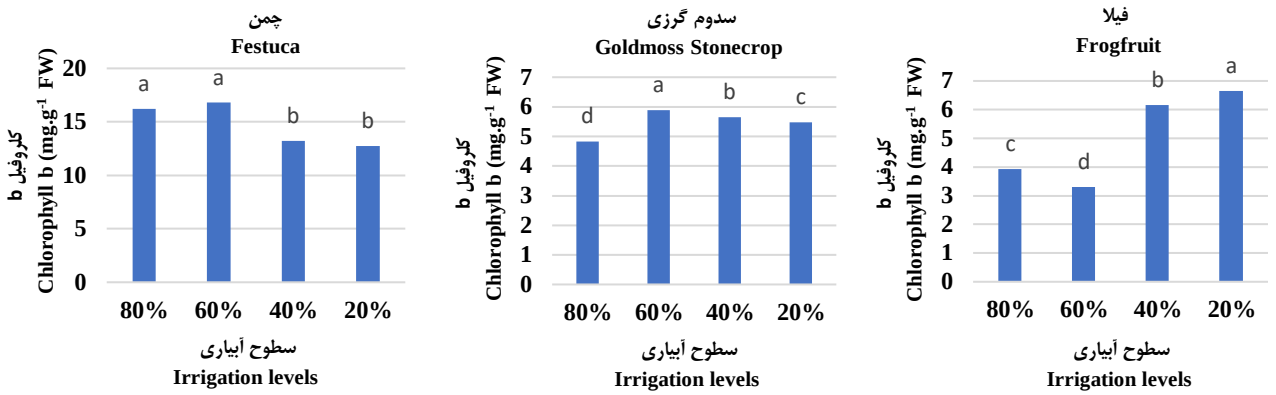
حروف مشابه در سطح احتمال پنج درصد با یکدیگر تفاوت معنی‌دار ندارند.

Similar letters have no significant difference at 5% probability.

کلروفیل b

نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها (شکل ۸) نشان داد که در گیاه چمن، بیشترین مقدار این صفت در سطح ۶۰ درصد ظرفیت زراعی با مقدار ۱۶/۷۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر مشاهده شد. پس از آن، به‌ترتیب سطوح ۸۰ درصد ظرفیت زراعی و ۴۰ درصد ظرفیت زراعی قرار گرفتند، درحالی‌که کمترین میزان این صفت در شدیدترین سطح تنش (۲۰ درصد ظرفیت زراعی) مشاهده شد. گونه 'سدوم گرزی' نیز الگوی مشابهی با گیاه چمن نشان داد، به‌طوری که بیشترین میزان کلروفیل b در این دو گونه نیز در سطح ۶۰ درصد ظرفیت زراعی ثبت گردید. در مقابل، در گیاه 'فیلا' بیشترین مقدار این صفت در سطح ۲۰ درصد ظرفیت زراعی با مقدار ۶/۶۵ مشاهده شد و پس از آن به‌ترتیب سطوح ۴۰، ۸۰ و ۶۰ درصد ظرفیت زراعی با میانگین ۶/۸۱، ۳/۹۷ و ۳/۱۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر قرار داشتند (شکل ۸).

کاهش میزان کلروفیل در گونه‌های حساس به تنش می‌تواند ناشی از تخریب ساختار ظریف کلروپلاست، تغییر در نسبت چربی به پروتئین رنگیزه‌ها، یا افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز باشد (Mohammadi, 2013). کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی تحت تأثیر تنش خشکی معمولاً به دلایلی از جمله کاهش سنتز کمپلکس اصلی کلروفیل، تخریب نوری کمپلکس پروتئینی رنگدانه‌ها و آسیب اکسیداتیو به لیپیدها، رنگدانه‌ها و پروتئین‌های کلروپلاست نسبت داده می‌شود (Fanaei et al., 2011). این فرآیند به‌عنوان سازوکار "حفاظت نوری" شناخته می‌شود (Salehi Shanjani et al., 2015).



شکل ۸- مقایسه میانگین کلروفیل b در گیاهان: چمن، سدوم گرزی و فیلا

Figure 8– Comparison of the mean Chlorophyll b in tall festuca, goldmoss stonecrop and frogfruit plants

حروف مشابه در سطح احتمال پنج درصد با یکدیگر تفاوت معنی‌دار ندارند.

Similar letters have no significant difference at 5% probability.

نتایج این آزمایش با نتایج آزمایش عباسپور و رضایی (Abbaspour & Rezaii, 2015) و احمدی آذر و همکاران (Ahmadi Azar et al., 2015) روی گیاه پنیرک[1] نیز مطابقت دارد. در این مطالعات نیز مشاهده شده است که با افزایش شدت تنش خشکی، میزان کلروفیل b کاهش یافت.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج این پژوهش، گونه‌های گیاه پوششی مورد بررسی، واکنش‌های متفاوتی نسبت به تنش خشکی از خود نشان دادند. گونه 'فیلا' (*Phyla nodiflora*) در بیشتر صفات ریخت‌شناختی و فیزیولوژیکی عملکرد مناسبی داشت و مقاومت قابل توجهی به شرایط کم‌آبی نشان داد. در مقابل، گونه 'سدوم گرزی' (*Sedum acre*)بیشترین حساسیت را نسبت به تنش نشان داد. نتایج همچنین نشان داد که با افزایش شدت تنش خشکی، شاخص‌هایی مانند طول ریشه، وزن تر اندام‌ها، محتوای نسبی آب برگ و مقدار کلروفیل کاهش یافت و نشت الکترولیت افزایش پیدا کرد. این پژوهش تأکید می‌کند که انتخاب گونه‌های مقاوم به خشکی مانند 'فیلا'، می‌تواند راهکاری مؤثر برای کاهش مصرف آب و حفظ پایداری فضای سبز شهری در اقلیم‌های خشک باشد. استفاده از چنین گیاهانی به‌عنوان جایگزین چمن‌های پُرمصرف، گامی مؤثر در جهت مدیریت منابع آب محسوب می‌شود، بااین‌حال، برای استفاده گسترده و پایدار از این گونه‌ها در شرایط اقلیمی و آبیاری مختلف، نیاز به مطالعات بیشتر و بررسی‌های تکمیلی وجود دارد.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از حمایت‌های مالی دانشگاه فردوسی مشهد سپاسگزاری می‌شود.

References

1. Abaszadeh Farouji, R., Hatamzadeh, A., Sharifi, A., & Kharrazi, M. (2025). Investigation of seed germination parameters and morphophysiological traits of *Tagetes erecta* (*Tagetes erecta* Antigua orange) in response to different LED light qualities. *Journal of Horticultural Science, 39*(1), 155-172. (In Persian). https://doi.org/10.22067/jhs.2024.89366.1370
2. Abbaspour, H., & Rezaii, H. (2015). Effects of gibberellic acid on Hill reaction, photosynthetic pigment and phenolic compounds in Moldavian dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.) in different drought stress levels. *Journal of Plant Research, 27*(5), 893-903. https://dor.isc.ac/dor/20.1001.1.23832592.1393.27.5.13.9
3. Abbaszadeh, B. , Sharifi Ashourabadi, E. , Lebaschi, M. , Naderi hajibagher Kandy, M. and Moghadami, F. (2008). The effect of drought stress on proline contents, soluble sugars, chlorophyll and relative water contents of balm (Melissa officinalis L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, *23*(4), 504-513. (In Persian). https://doi.org/10.22092/ijmapr.2008.10090
4. Ahmadi Azar, F., Hassanlou, T., Imani, A., & Fayzi Asl, V. (2015). Water stress and mineral zeolite application on growth and some physiological characteristics of mallow (*Malva sylvestris*). *Plant Research Journal (Iranian Journal of Biology), 3*(28), 459–474. (In Persian). https://dor.isc.ac/dor/20.1001.1.23832592.1394.28.3.1.0

1- *Mesembryanthemum cordifolium*

5. Askari, M., Behdani, M., Parsa, S., Jami Alahmadi, M., & Mahmoudi, S. (2017). Effects of water stress and manure on stomatal conductance, relative water content, photosynthetic pigments and quantitative and qualitative yield of *Thymus vulgaris* L. and *Thymus daenensis* Celak. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, *33*(5), 793–811. (In Persian). https://doi.org/10.22092/ijmapr.2017.110349.2008
6. Azadifar, A., Zare Abyaneh, H., Sarikhani, H., & Mosadeghi, M. (2024). Broccoli response to application of natural nanobiochar amendment, deficit irrigation and nitrogen fertigation. *Journal of Soil and Water Conservation Research, 30*(4), 29–56. (In Persian). https://doi.org/10.22069/jwsc.2023.21265.3661
7. Blanco-Canqui, H., Shaver, T. M., Lindquist, J. L., Charles, A., Shapiro, R. W., Elmore, C., Francis, A., & Hergert. G. W. (2015). Cover crops and ecosystem services: Insights from studies in temperate soils. *Agronomy Journal*, *107*(6), 449-2474. https://doi.org/10.2134/agronj15.0086
8. Ebrahimian, M., & Kazemi, F. (2017). Approaches to expanding the concept of xeriscaping in urban parks. The 3rd International Conference on Architecture, Civil Engineering and Urban Planning in the Beginning of the Third Millennium, Tehran, Iran. (In Persian).
9. Eidi, A., Kazemieh, F., & Zarifian, Sh. (2021). Identification of factors affecting sustainable management of agricultural water resources from the farmers' perspective (Case study: Wheat farmers in the villages of Maragheh County). *Journal of Agricultural Science and Sustainable Production*, *31*(2), 361-375. (In Persian). https://doi.org/10.22034/saps.2020.12319
10. Elhami, H. (2016). Investigation of the effects of drought stress on yield and quantitative and qualitative traits of four groundcover species with potential for use in green spaces of Mashhad. MSc. Thesis, Department of Horticultural Sciences and Landscape Engineering, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran. (In Persian).
11. Esmaeili, S., Salehi, H., & Khosh-Khui, M. (2017). Seasonal changes in some physiological and biochemical responses of six groundcover plants. *International Journal of Horticultural Science and Technology, 4*(1), 105-116. https://doi.org/10.22059/ijhst.2018.216412.151
12. Ezzati, R., Torchi, M., Moghaddam Vahid, M., & Rostaei, M. (2024). Effect of drought stress on morphological and biochemical traits of roots and seed yield in wheat cultivars and promising lines (*Triticum aestivum L.*). *Iranian Journal of Agricultural Sciences, 26*(2), 129–147. (In Persian).
13. Fanaei, H., Galavi, M., Kafi, M., Ghanbari Benjar, A., & Shirani Rad, A. (2011). Effect of drought stress and different potassium levels on osmolyte accumulation and chlorophyll content in two species of rapeseed and Indian mustard. *Soil and Water Sciences*, *15*(57), 141–156. (In Persian). https://dor.isc.ac/dor/20.1001.1.24763594.1390.15.57.20.2
14. Ferrini, F., Fini, A., Frangi, P., & Amoroso, G. (2008). Mulching of ornamental trees: Effects on growth and physiology. *Arboriculture & Urban Forestry*, *34*(3), 157–162. https://doi.org/10.48044/jauf.2008.021
15. Gazanchian, A., Khosh Kholgh Sima, N. A., Malboobi, M. A., & Majidi Heravan, E. (2006). Relationships between emergence and soil water content for perennial coolseason grasses native to Iran. *Crop Science, 46*, 544-553. https://doi.org/10.2135/cropsci2005.04-0357
16. Ghorbani, M., Mortazavi, S. N., & Arghavani, M. (2022). Morphophysiologycal evaluation of gold moss stonecrop (*Sedum acre L.*) under salicylic acid treatment in water deficit. *Clinical Cancer Investigation Journal*, *11*(1-2022), 1-10.
17. Ghorbani, Z. (2021). The effect of different levels of fulvic acid on physiological and morphological traits of perennial ryegrass (*Lolium perenne*) under drought stress conditions. MSc. Thesis, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran. (In Persian).
18. Gupta, A., Rico-Medina, A., & Caño-Delgado, A. I. (2020). The physiology of plant responses to drought. *Science*, *17*, 266-269. https://doi.org/10.1126/science.aaz7614
19. Harper, S., Wright, C., Masina, S., &Coggins, S. (2020). Climate change, water, and human health research in the Arctic. *Water Security*, *10*, 1-10. https://doi.org/10.1016/j.wasec.2020.100062
20. Hatami Nejad, H., & Omranzadeh, B. (2010). Study, evaluation, and proposal of urban green space per capita: A case study of Mashhad metropolitan area. *Geography*, *8*(25), 67–85. (In Persian).
21. Heydari, N., Pouryousef, M., & Tavakoli, Y. (2014). Effect of drought stress on photosynthesis, related parameters, and relative water content in (*Pimpinella anisum L.*) plant. *Research Journal (Iranian Journal of Biology)*, *27*(5), 829–839. (In Persian). https://dor.isc.ac/dor/20.1001.1.23832592.1393.27.5.7.3
22. Kafashzade, Z., Nabavi Kalat, S., Abbasi, M., & Soohani Darban, A. (2024). Effects of deficit irrigation on relative water content, proline concentration, antioxidant enzyme activity, chlorophyll concentration, and forage yield of five clover species (*Trifolium spp*). *Iranian Journal of Soil and Water Research*, *55*(7), 1158–1197. (In Persian). https://doi.org/10.22059/ijswr.2024.370250.669628

23. Karimian, Z. (2019). The conflict between landscape aesthetic preferences and sustainable green space in arid regions. *Flowers and Ornamental Plants, 4*(1), 1–12. (In Persian).
24. Li, X., Ingvordsen, C. H., Weiss, M., Rebetzke, G. J., Condon, A. G., James, R. A., & Richards, R. A. (2019). Deeper roots are associated with cooler canopies, a higher normalized difference vegetation index, and greater yield in three wheat populations grown on stored soil water. *Journal of Experimental Botany, 70*(18), 4963-4974. https://doi.org/10.1093/jxb/erz232
25. Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology, 1*(48), 350-382. https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1
26. Linares, J., Scholberg, J. M. S., Chase, C., Mcsorely, R., & Ferguson, J. (2008). Evaluation of annual warmseason cover crops for weed management in organic citrus. Proceedings of 16th IFOAM Organic Congress, 16-20 June, Modena, Italy.
27. Mirzaei Hassanlou, A., Erfaniyan, M., Javan, K., & Najafi, M. (2024). Trend analysis of extreme precipitation indices in Iran based on multiple regression model. *Environmental and Water Engineering, 10*(4), 541–557. (In Persian). https://doi.org/10.22034/ewe.2024.441177.1912
28. Mohammadi, M. (2013). The effect of silicon and salicylic acid on some physiological, biochemical, morphological, and quality traits of grass. MSc. Thesis, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran. (In Persian).
29. Mousavi Bazzaz, A. (2015). Evaluation of salinity stress tolerance in native tall fescue (*Festuca arundinacea*) populations for potential use in green spaces. PhD Dissertation, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran. (In Persian).
30. Noor, M., Fan, J., Kaleem, M., Kaleem, M., Tanveer Akhtar, M., Jin, Sh., Nazir, U., Zhang, Ch., & Yan, X. (2024). Assessment of the changes in growth, photosynthetic traits and gene expression in *Cynodon dactylon* against drought stress. *BMC Plant Biol, 24*, 235. https://doi.org/10.1186/s12870-024-04896-x
31. Sadat-Firzani, M., Khazaei, H., & Gozanchian, A. (2021). Improvement of drought tolerance using municipal waste compost in native tall fescue grass. *Horticultural Science, 35*(2), 253–266. (In Persian).
32. Salahvarzi, Y., Tehranifar, A., & Gazanchian, A. (2008). Investigating the physiomorphological changes of native and exotic turfgrasses under drought stress and re-watering. *Iranian Journal of Horticultural Science and Technology, 9*(3), 193-204.
33. Salehi Shanjani, P., Izadpanah, F., Ramazani Yeganeh, R., Rasoulzadeh, S., & Esmaeil, S. (2015). Comparison of drought stress effects on osmotic regulation, peroxidase, polyphenol oxidase, and pigments in different seed samples of false chamomile and yellow chamomile (*Anthemis tinctoria* and *Tripleurospermum servanes*) from the Gene Bank of Iranian Natural Resources. *Plant Research Journal (Iranian Journal of Biology), 28*(1), 126–139. (In Persian). https://dor.isc.ac/dor/20.1001.1.23832592.1394.28.1.12.7
34. Samieiani, A., Ansari, H., Azizi, M., Hashemnia, M., & Salahvarzi, Y. (2013). Effect of drought stress on some biochemical indices in four groundcover species (*Lolium perenne*, *Potentilla*, *Trifolium repens*, and *Frankenia*) with potential for use in green spaces. *Journal of Greenhouse Crop Science and Technology, 4*(15), 101–109. (In Persian). https://dor.isc.ac/dor/20.1001.1.20089082.1392.4.3.9.8
35. Shiravand, D. (2012). Landscape Design and Green Space with Ornamental Trees and Shrubs (2nd ed.). Agricultural Training and Promotion Publishing. Iran, 600 p. (In Persian).
36. Shirinzadeh, N., Biglouei, M., Akhavan, K., & Mohammadi, A. (2022). Effects of deficit irrigation and irrigation method on water productivity, yield, and yield components of wheat. *Crop Production (Pardis Aburaihan Journal of Agriculture), 24*(2), 283–296. (In Persian). https://doi.org/10.22059/jci.2021.309207.2444
37. Shushtarian, S., Salehi, H., & Tehrani Far, A. (2011). Study of growth and development features of ten ground cover plants in Kish Island green space in warm season. *Agricultural Ecology, 3*(4), 514–524. (In Persian). https://doi.org/10.22067/jag.v3i4.14909
38. Talebi, K. (2012). Grass Planting and Maintenance Management (1st ed.). Municipalities and Rural Districts Organization Publishing. Iran, 131 p. (In Persian).
39. Vahdati, N., Tehrani Far, A., & Kazemi, F. (2015). Investigation of the effect of species diversity and different irrigation regimes on the selection of suitable planting designs in the cold and warm seasons in Mashhad. The 9th Iranian Horticultural Sciences Congress, Ahvaz, Iran. (In Persian).
40. Willson, D., & Slocum, G. (2017). Understand cover crops, benefits and selection. https://kingsagriseeds.com/.
41. Yang, W., Li, N., Fan, Y., Dong, B., Song, Z., Cao, H., Du, T., Liu, T., Qi, M., Niu, L., Meng, D., Yang, Q., & Fu, Y. (2021). Transcriptome analysis reveals abscisic acid enhancing drought resistance by regulating genes related to flavonoid metabolism in pigeon pea. *Environmental and Experimental Botany, 191*, 104627. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2021.104627

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

Research Article
Vol. 40, No. 3, Fall 2026, p. 415-431

Rootstock-Scion Interaction: Top-Working of Grapevines (Bidaneh-Sefid Rootstock) by Cleft-Grafting Technique using Foreign Grape (*Vitis vinifera*) Varieties as Scion

S. Faraji[1*], S. Karami[2], S. M. M. Mirfatah[1]

1- Crop and Horticultural Science Research Department, Markazi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Arak, Iran
2- Department of Agriculture, Payame Noor University (PNU), Tehran, Iran
(*- Corresponding author's Email: s.faraji@areeo.ac.ir)

Received: 09 July 2025
Revised: 14 October 2025
Accepted: 03 December 2025
Available Online: 03 December 2025

How to cite this article:
Faraji, S., Karami, S., & Mirfatah, S. M. M. (2026). Rootstock-scion interaction: Top-working of grapevines (Bidaneh-sefid rootstock) by Cleft-grafting technique using foreign grape (*Vitis vinifera*) varieties as scion. *Journal of Horticultural Science, 40*(3), 415-431. (In Persian). https://doi.org/10.22067/jhs.2025.94309.1444

Introduction

Top-working is one of the propagation and improvement techniques for fruit trees, which is also applied in grapevines to enhance fruit quality, change cultivars, increase disease resistance, and improve adaptability to climatic conditions. This method allows growers to graft new and desirable cultivars onto existing rootstocks without removing old vines, enabling production in a short period. Therefore, in this research, conducted between 2022 to 2024, the aim was to diversify the predominant grape (*Vitis vinifera*) cultivar (Bidaneh-sefid) in Shazand, Markazi province, by grafting foreign cultivars onto mature rootstock in local grapevines (Bidaneh-sefid).

Materials and Methods

The experiment was conducted as a split plot in a randomized complete block design with three replications. The experimental treatments included the main plot assigned to two grafting methods (Hard-cleft grafting and Green-cleft grafting) and the sub-plot assigned to six foreign-commercial grape varieties as scion (Turkmen-4, Flame seedless, Rubi seedless, Perlette, Autumn King, Autumn Royal). In the first year, the percentage of grafting success, scion growth (cm) and the percentage of damage caused by winter and late spring cold stress were evaluated. Subsequently, in the third year, at the physiological mature stage of grape fruits, the interaction effect scion and rootstocks on some quantitative (berry length: mm, berry diameter: mm, berry weight: g, cluster length: cm, cluster width: cm, cluster weight: g and yield: $kg.vine^{-1}$) and qualitative (flavor index and total soluble solids: TSS) traits of the fruit were evaluated. Afterwards, to analysis data, the normality test of the data for all measured traits (except the percentage of damage caused by cold stress) was performed based on the Kolmogorov-Smirnov test, then the variance analysis of the data was performed using the GLM procedure and the comparison of means was performed using the least significant difference (LSD) test at a probability level of $P< 0.05$ with SAS software. In order to compare the percentage of damage of scions caused by cold stress, the ratio test and Fisher's z test statistic were used using SPSS ver. 28 software. Cluster analysis and grouping of varieties were performed using the WARD method and using Euclidean distance for the first year data, simple correlation coefficient between quantitative traits related to fruit, Principal Component Analysis (PCA) to identify internal relationships between the studied varieties (rootstock and scions) and some measured traits in the third year, followed by biplots drawn between the characteristics and varieties based on Stat Graphics software version 11/1/16.

Authors retain the copyright. This is an open access article distributed under Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0).
https://doi.org/10.22067/jhs.2025.94309.1444

Results and Discussion

Based on the results of analysis of variance, the simple effect of variety and the interaction effect of graft-variety were significant ($p \leq 0.01$) and non-significant, respectively, for all evaluated traits. On the other hand, the simple effect of graft on all evaluated traits except fruit quality indices was significant ($p \leq 0.01$). The highest percentage of grafting success and one-year scion growth was obtained by the green-cleft grafting and hard-cleft grafting methods, respectively. The results of the assessment of damage caused by winter cold and late spring cold in the first year indicated greater sensitivity of vines grafted using the green-cleft grafting method compared to the hard-cleft grafting method. On the other hand, vines grafted using the hard-cleft grafting method had the highest values of yield components and fruit yield in the third year. Based on the grouping of varieties using the Ward method and Euclidean distance, two cultivars, "Autumn Royal" and Turkman-4, achieved superior positions compared to other varieties in terms of the evaluated traits in the first year. On the other hand, all varieties evaluated as scion had acceptable values of total soluble solids (TSS) and fruit flavor index. Regardless of the type of grafting method, due to the non-significant interaction effect of graft-variety on the measured traits in the third year, the results of principal component analysis and biplot based on the first component (yield and components correlated with yield including berry length, berry diameter, and berry weight) and the second component (TSS and flavor index) showed that the varieties "Autumn Royal" and "Turkmen-4" were superior compared to other varieties (scions and rootstock).

Conclusion

In summary, the results of the present study indicate that the cleft-grafting method, the selected time, and the environmental conditions of the Shazand region were suitable for grape grafting. The two varieties "Autumn Royal" and "Turkmen-4" can be introduced as appropriate candidates for grafting grapevines in the Shazand region with the "Bidaneh-sefid" rootstock using either green or hard-cleft grafting methods due to the desired economic performance. Besides, the "Turkmen-4" variety, due to its early maturity, and the "Autumn Royal" variety, due to its late maturity, can be recommended for areas of the Markazi province with early autumn rainfall and areas with long summers, respectively.

Keywords: Fruit quality indices, Fruit yield, Grafting success, Grapevines, Scion growth

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

مقاله پژوهشی

جلد ۴۰، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۵، ص. ۴۳۱-۴۱۵

برهم‌کنش بین پایه و پیوندک: سرشاخه‌کاری تاک‌های انگور (*Vitis vinifera*) (پایه Bidaneh-sefid) به‌روش اسکنه‌ای با استفاده از ارقام انگور خارجی به‌عنوان پیوندک

سکینه فرجی[1*]- ثریا کرمی[2]- سید محمدمهدی میرفتاح[1]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۴/۱۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۹/۱۲

چکیده

پژوهش حاضر با هدف سرشاخه‌کاری و تغییر رقم تاک‌های انگور (*Vitis vinifera*) رقم 'بی‌دانه سفید' در منطقه شازند استان مرکزی طی سال‌های ۱۴۰۳-۱۴۰۱ طراحی شد. آزمایش به‌صورت اسپلیت پلات با طرح پایه بلوک کامل تصادفی در سه تکرار با عامل اصلی روش پیوند در دو سطح (پیوند اسکنه‌ای خشبی و اسکنه‌ای سبز) و عامل فرعی رقم در شش سطح (ارقام انگور خارجی-تجاری به‌عنوان پیوندک: 'ترکمن ۴'، 'فلم‌سیدلس'، 'روبی‌سیدلس'، 'پرلت'، 'آتوم‌کینگ' و 'آتوم‌رویال') اجرا شد. درصد موفقیت پیوند، رشد رویشی پیوندک یک‌ساله و میزان خسارت ناشی از تنش سرمای زمستانه و بهاره در سال اول و عملکرد، اجزای عملکرد و برخی شاخص‌های کیفی میوه (مواد جامد محلول و شاخص طعم) در سال سوم ارزیابی گردید. براساس نتایج تجزیه واریانس، اثر ساده رقم و اثر متقابل پیوند×رقم بر همه صفات ارزیابی‌شده به‌ترتیب معنی‌دار و غیرمعنی‌دار بود. از سوی دیگر، اثر ساده پیوند بر تمام صفات ارزیابی‌شده به‌استثناء شاخص‌های کیفی میوه معنی‌دار بود. بیشترین درصد موفقیت پیوند و رشد رویشی پیوندک یک‌ساله به‌ترتیب در روش پیوند اسکنه‌ای سبز (۸۳ درصد) و خشبی (۱۴۵ سانتی‌متر) مشاهده شد. نتایج ارزیابی میزان خسارت ناشی از تنش سرمای زمستانه و سرمای دیررس بهاره در سال اول نشان‌دهنده حساسیت بیشتر تاک‌های پیوندشده به‌روش اسکنه‌ای سبز نسبت به سرمای منطقه در مقایسه با روش اسکنه‌ای خشبی بود. از سوی دیگر، تاک‌های پیوندشده به‌روش اسکنه‌ای خشبی، بیشترین مقادیر عملکرد و اجزای عملکرد را در سال سوم به خود اختصاص دادند (۱۹ درصد افزایش عملکرد در مقایسه با روش اسکنه‌ای سبز). براساس گروه‌بندی ارقام به‌روش وارد براساس فاصله اقلیدوسی، دو رقم 'آتوم‌رویال' و 'ترکمن ۴' از نظر صفات ارزیابی‌شده در سال اول در جایگاه برتری نسبت به سایر ارقام قرار گرفتند. از سوی دیگر ،همه ارقام ارزیابی‌شده به‌عنوان پیوندک از مقادیر قابل قبولی مواد جامد محلول (TSS) (محدوده قابل قبول: بیشتر از ۱۴/۵ بریکس، محدوده ثبت‌شده ۲۷-۱۹ بریکس) و شاخص طعم میوه (شاخص طعم قابل قبول برابر ۲۰، محدوده ثبت‌شده ۳۵-۲۷) برخوردار بودند. صرف نظر از نوع پیوند انجام‌شده به‌دلیل عدم معنی‌داری اثر متقابل پیوند×رقم بر صفات اندازه‌گیری‌شده در سال سوم، نتایج تجزیه به مؤلفه‌های اصلی و بای‌پلات ترسیمی براساس مؤلفه اول (عملکرد و اجزای همبسته با عملکرد شامل طول حبه، قطر حبه و وزن حبه) و مؤلفه دوم (مواد جامد محلول و شاخص طعم) نشان دادند که ارقام 'آتوم‌رویال' و 'ترکمن ۴' از جایگاه برتری در مقایسه با سایر ارقام (پیوندک و پایه) برخوردار بودند. در مجموع، نتایج پژوهش حاضر حاکی از آن است که نوع پیوند، زمان انتخاب‌شده و همچنین شرایط محیطی منطقه شازند برای سرشاخه‌کاری انگور مناسب بود و دو رقم 'آتوم‌رویال' و 'ترکمن ۴' را می‌توان به‌عنوان منتخب مناسب برای سرشاخه‌کاری تاکستان‌های این منطقه با پایه 'بی‌دانه سفید' با هر یک از روش‌های پیوند اسکنه‌ای سبز یا خشبی به‌دلیل حصول عملکرد اقتصادی مطلوب معرفی نمود. همچنین رقم 'ترکمن ۴' را به‌دلیل زودرسی و رقم 'آتوم‌رویال' را به‌دلیل دیررس بودن می‌توان به‌ترتیب برای مناطقی از استان مرکزی با بارندگی‌های زودرس پاییزه و مناطقی با تابستان‌های طولانی پیشنهاد نمود.

واژه‌های کلیدی: تاکستان، رشد پیوندک، شاخص‌های کیفی میوه، عملکرد میوه، موفقیت پیوند

۱- بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان مرکزی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اراک، ایران
۲- گروه علوم کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: s.faraji@areeo.ac.ir)

https://doi.org/10.22067/jhs.2025.94309.1444

مقدمه

ایران به‌دلیل دارا بودن ژرم‌پلاسمی غنی برای بسیاری از محصولات باغبانی و همچنین مناطقی با شرایط آب‌وهوایی متنوع، بی‌شک یکی از مناطق مهم و بالقوه تولید میوه در دنیا محسوب می‌شود. در این بین، انگور (*Vitis vinifera*) به‌دلیل حضور قندها، اسیدهای آلی و ترکیبات معطر در گوشت میوه، ترکیبات فلاونولی، آنتوسیانینی و تانن‌ها در پوست میوه و همچنین تانن‌ها و روغن در بذر انگور، از ارزش بالای غذایی، دارویی، بهداشتی و همچنین ارزش بالای سرمایه‌گذاری در صنایع تبدیلی برخوردار است (Kennedy, 2006). طبق آخرین آمار منتشرشده سازمان خواربار جهانی (FAO, 2023)، سطح زیرکشت انگور در دنیا ۶۵۹۵۶۸۰ هکتار و میزان برداشت میوه از این مقدار سطح زیرکشت، ۷۲۴۸۶۵۲۲ تن ثبت گردید. در همین سال، ایران با ۱۱۳۵۵۰ هکتار سطح زیرکشت، حدود ۱۴۷۳۲۴۱ تن برداشت میوه را به ثبت رسانید، ولی متأسفانه براساس آخرین آمار سازمان فائو، ایران از سال ۲۰۲۰ جایگاه خود را در بین ۱۰ کشور برتر تولیدکننده انگور در دنیا از دست داده است که عوامل متعددی از جمله کشت ارقام محدود (غالباً بومی) و همچنین سن بالای تاک و تاکستان‌ها که بر کیفیت و کمیت محصول تأثیر بسزایی دارند، قابل ذکر است. ازآنجایی‌که جایگزینی تاکستان‌های قدیمی و احداث تاکستان جدید به‌دلیل هزینه‌های بالا برای تاکدار مقرون‌به‌صرفه نمی‌باشد، لذا استفاده از شیوه‌های جدید و کم‌هزینه همچون سرشاخه‌کاری می‌تواند به‌عنوان یک راه حل اقتصادی در نظر گرفته شود.

سرشاخه‌کاری، پیوندی است که بر روی درختان چندساله موجود (به‌عنوان پایه) و در زمین اصلی با هدف تعویض رقم قبلی با یک رقم مطلوب (از نظر عملکرد، مقاومت به تنش‌های زنده یا غیرزنده و ...) صورت می‌گیرد. پتانسیل موفقیت‌آمیز این روش در حصول به اهداف مورد اشاره در برخی از درختان میوه همچون زیتون (*Olea europea* L.) (Ajamgard et al., 2023; León et al., 2020)، سیب (*Malus domestica*) (Børve et al., 2025; Wheeler et al., 2024)، گردو (*Juglans regia*) (Ladon et al., 2025; Rezaee & Vahdati, 2008)، گیلاس (*Prunus avium* L.) (Ganji Moghaddam et al., 2023; Zenginbal et al., 2017) و انگور (Assuncao et al., 2019; Park & Sagong, 2024; Mirfatah et al., 2024; ValizadehKaji et al., 2020; Asadi et al., 2020) در دنیا و همچنین به‌عنوان یک شیوه جدید در ایران گزارش شده است.

میزان موفقیت در پیوند سرشاخه‌کاری به عواملی متعددی همچون نوع درخت میوه، نوع پیوند، زمان پیوند، رقم پیوندک، رقم پایه، مهارت در اجرای کار، مدیریت باغ بعد از اجرای سرشاخه‌کاری، نوع پوشش و ... وابسته است. در خصوص تأثیر نوع درخت میوه، مطالعات نشان داده است که برای درختان سیب در مقایسه با درختان زردآلو، پیوند زبانه‌ای در مقایسه با پیوندهای شکمی و اسکنه‌ای در تکنیک سرشاخه‌کاری موفق‌تر عمل نموده و از سوی دیگر میزان گیرایی (موفقیت) پیوند اسکنه‌ای در مقایسه با دو روش دیگر در درختان زردآلو بیشتر بوده است (Dwivedi et al., 2000; Mukred & Hrotkó, 1989). همچنین درصد گیرایی نوع پیوند در ارقام یک گونه نیز متفاوت است؛ به‌طوری که در مطالعه انجام‌شده روی سه رقم گیلاس، گیرایی روش پیوند اسکنه‌ای در مقایسه با پیوند تاجی به‌ترتیب ۶۵ به ۱۳ درصد بود (Ganji Moghaddam et al., 2023). تأثیر تعیین مناسب‌ترین زمان برای شاخه‌کاری نیز بر میزان موفقیت بررسی گردید؛ به‌طوری که در انگور، بهترین زمان برای اجرای پیوند اسکنه‌ای خشبی قبل از شروع رشد تاک، و برای پیوند اسکنه‌ای سبز در زمان رشد شاخه‌های ترد و آبدار است (Mahmoudzadeh, 2003). در بررسی تأثیر نوع پوشش محل پیوند و روش پیوند بر گیرایی پیوند در درختان گردو مشخص شد که پوشش خاک‌اره در سه نوع پیوند زینی، اسکنه‌ای و تاجی، تأثیر مناسبی در این مهم دارد (Rezaee & Naghilou, 2015).

از بین استان‌های تولیدکننده انگور، استان مرکزی با سطح زیرکشت ۱۷ هزار هکتار و تولید ۲۰۰ هزار تن میوه در زمره تولیدکننده‌های انگور (رتبه نهم) در کشور محسوب می‌شود؛ بااین‌وجود بیش از ۵ پنج هکتار از تاکستان‌های استان کم‌بارده هستند (Agricultural Statistics, 2022). عمر بالای تاکستان‌های این استان (به‌طور متوسط بالای ۱۵ سال) و کشت تعداد محدودی ارقام بومی (ارقام غالب) عمدتاً رقم 'بی‌دانه سفید' از عوامل مهم کم‌بارده بودن تاکستان‌ها می‌باشد. ازاین‌رو پژوهش حاضر با هدف اجرای سرشاخه‌کاری رقم 'بی‌دانه سفید' به‌عنوان پایه با استفاده از ارقام خارجی-تجاری (پیوندک) به‌منظور بررسی برهم‌کنش بین پایه و پیوندک، چگونگی رشد و سازگاری ارقام پیوندشده روی پایه و در نهایت معرفی رقم/ارقام به‌عنوان منتخب امیدبخش در سرشاخه‌کاری با پتانسیل مطلوب اقتصادی در منطقه/استان، طراحی و اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

این پژوهش طی سه سال (۱۴۰۳-۱۴۰۱) در تاکستان تحقیقاتی واقع در شهرستان شازند-روستای بصری با مشخصات جغرافیایی ۳۳/۵۷ درجه شمالی و ۴۹/۲۴ درجه شرقی با ارتفاع از سطح دریا ۱۹۱۳ متر، آب‌وهوای سرد و کوهستانی (تابستان معتدل و زمستان سرد) با میانگین دمای حداکثر مطلق ۲۰ درجه سلسیوس و میانگین

دمای حداقل پنج درجه سلسیوس به‌صورت اسپلیت پلات (کرت‌های خردشده) با طرح پایه بلوک کامل تصادفی در سه تکرار و در هر تکرار پنج واحد آزمایشی (تاک) اجرا شد. پلات اصلی شامل پیوند اسکنه‌ای با دو سطح (اسکنه خشبی و اسکنه سبز) و پلات فرعی شامل رقم با شش سطح ('ترکمن ۴'، 'فلم‌سیدلس'، 'روبی‌سیدلس'، 'پرلت'، 'آتوم‌کینگ' و 'آتوم‌رویال') با پایه‌های هم‌سن در نظر گرفته شد. رقم 'بی‌دانه سفید'(رقم بومی-تاک‌های ۱۵ ساله) با سیستم پرورشی ایستاده (داربستی) به‌عنوان پایه در نظر گرفته شد.

روش اجرا

به‌منظور اجرای عملیات پیوند اسکنه‌ای خشبی روی پایه 'بی‌دانه سفید' پیوندک دو جوانه‌ای از شاخه یک‌ساله چوبی‌شده شش رقم انگور خارجی-تجاری (اشاره‌شده در بالا) شرکت جووین استان خراسان رضوی تهیه و در یخچال (دمای چهار درجه سلسیوس) نگهداری شد. در بیستم فروردین ماه ۱۴۰۱، ابتدا تاک‌های رقم 'بی‌دانه سفید' از ارتفاع ۵۰ سانتی‌متری سربرداری گردید و سپس تنه به عمق ۲/۵ تا ۴ سانتی‌متر شکافته شد و پیوندک ارقام مورد نظر طوری در شکاف تنه قرار داده شد که تماس بین لایه زاینده پایه و پیوندک برقرار گردید. سپس شکاف بین دو پیوندک با پنبه بسته و محل پیوند با نخ بسته شد. به‌منظور جلوگیری از خشک شدن پیوندک‌ها، سایه‌بان بر روی پیوندک‌ها قرار گرفت و بعد از رشد پیوندک‌ها، سایه‌بان برداشته شد (شکل ۱).

به‌منظور اجرای عملیات پیوند اسکنه‌ای سبز، ابتدا در اواخر زمستان ۱۴۰۰، تنه تاک‌های رقم 'بی‌دانه سفید' سربرداری شده و پس از رشد شاخه‌های سال جاری در زمان رشد فعال بوته‌ها، پیوند اسکنه‌ای سبز (اواخر خرداد ۱۴۰۱) انجام گردید. بدین منظور، پیوندک‌های ارقام خارجی-تجاری از ایستگاه تحقیقات انگور ملایر تهیه و در داخل یخدان به باغ منتقل گردید. سپس شکافی طولی در محل گره شاخه سبز تاک‌های رقم 'بی‌دانه سفید' ایجاد و پیوندک سبز تک جوانه‌ای بدون برگ در جهت جوانه حذف‌شده (لایه زاینده پایه و پیوندک باید در تماس با همدیگر باشند) پایه قرار داده شد. سپس محل پیوند با نایلون نازکی به‌خوبی بسته شد (شکل ۲).

پس از پایان سرشاخه‌کاری و در پایان فصل رشد، میزان موفقیت پیوند (درصد) و رشد رویشی پیوندک (سانتی‌متر) مورد ارزیابی قرار گرفت. درصد و شدت خسارت به پیوندک به‌دلیل تنش سرمای زمستانه (۱۴۰۱) و سرمای دیررس بهاره (۱۴۰۲) نیز ثبت گردید. همچنین به‌منظور ارزیابی عملکرد کمّی و شاخص‌های کیفی میوه، در سال اول (۱۴۰۱) علی‌رغم باردهی شاخه‌های پیوندک یک‌ساله (غیر-اقتصادی)، کلیه خوشه‌ها حذف گردید و در سال دوم (۱۴۰۲) نیز به‌منظور قوی‌تر شدن شاخه‌ها و دستیابی به عملکرد کمّی و کیفی با توجیه اقتصادی، عملیات هرس شاخه‌های پیوندک انجام گردید. در سال سوم (۱۴۰۳) در مرحله بلوغ تجاری پس از برداشت میوه در پلات‌های اصلی به‌طور جداگانه، در سطح رقم/تکرار، صفات طول خوشه (سانتی‌متر)، عرض خوشه (سانتی‌متر)، وزن خوشه (گرم)، طول حبه (میلی‌متر)، قطر حبه (میلی‌متر)، وزن حبه (گرم) و عملکرد (کیلوگرم در تاک) در هر تیمار اندازه‌گیری شد. به‌منظور ارزیابی شاخص‌های کیفی میوه، پس از نمونه‌برداری تصادفی از خوشه‌های تاک‌های انتخابی (مطابق با طرح آزمایشی اجرایی)، نمونه‌ها به آزمایشگاه بخش علوم باغبانی مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی، مرکز تحقیقات، آموزش ترویج کشاورزی و منابع طبیعی استان مرکزی انتقال و پس از آبگیری میوه، میزان مواد جامد محلول (بریکس)، اسیدیته قابل تیتراسیون (گرم اسید تارتاریک در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب میوه) و نسبت مواد جامد محلول به اسیدیته قابل تیتراسیون (شاخص طعم) براساس دستورالعمل حسینیان و همکاران (Hoseiniyan et al., 2020) اندازه‌گیری گردید.

لازم به ذکر است که ۱۵ تاک (پنج تکرار و در هر تکرار سه تاک) از رقم 'بی‌دانه سفید' بدون هیچ‌گونه عملیات سرشاخه‌کاری به‌طور تصادفی انتخاب گردید و کلیه صفات اندازه‌گیری‌شده در سال سوم روی ارقام پیوندک، در خصوص رقم 'بی‌دانه سفید' نیز ثبت گردید. داده‌های مربوط به رقم 'بی‌دانه سفید' صرفاً در تجزیه به مؤلفه‌های اصلی و بای‌پلات ترسیمی استفاده گردید.

واکاوی آماری داده‌ها

تست نرمال بودن داده‌ها برای کلیه صفات اندازه‌گیری‌شده (به‌استثنای درصد خسارت ناشی از تنش سرما)، براساس آزمون Kolmogorov-Smirnov انجام گردید و در ادامه تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از رویه GLM و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال ۵ درصد به‌سیله نرم‌افزار SAS انجام گرفت. به‌منظور مقایسه درصد خسارت پیوندک‌ها به‌دلیل تنش سرمایی، از آزمون نسبت و آماره آزمون z فیشر توسط نرم‌افزار SPSS ver. 28 استفاده گردید. تجزیه خوشه‌ای و گروه‌بندی ارقام به‌روش WARD و با استفاده از فاصله اقلیدسی برای داده‌های سال اول، همبستگی ساده بین صفات کمّی مرتبط با میوه، تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (Principal Component Analysis) به‌منظور شناسایی روابط داخلی بین ارقام مورد مطالعه و برخی صفات اندازه‌گیری‌شده در سال سوم و به‌دنبال آن بای‌پلات ترسیم‌شده صفات و ارقام براساس نرم‌افزار Stat Graphics نسخه ۱۶/۱/۱۱ انجام گردید.



شکل ۱- عملیات سرشاخه‌کاری انگور 'بی‌دانه سفید'' به‌عنوان پایه به‌روش پیوند اسکنه‌ای خشبی

Figure 1- Top-working operation of 'Bidaneh sefid' grape as rootstock using the Hard-Cleft Grafting



شکل ۲- عملیات سرشاخه‌کاری انگور 'بی‌دانه سفید' به‌عنوان پایه به‌روش پیوند اسکنه‌ای سبز

Figure 2- Top-working operation of 'Bidaneh sefid' grape as rootstock using the Green-Cleft Grafting

نتایج و بحث

سال اول (۱۴۰۱)

براساس آنالیز واریانس، اثر ساده پیوند (اسکنه‌ای خشبی، اسکنه‌ای سبز) و رقم بر موفقیت پیوند و رشد پیوندک یک‌ساله معنی‌دار بود. بااین‌وجود تفاوت معنی‌داری برای دو صفت ذکرشده در اثر متقابل پیوند با رقم مشاهده نگردید (جدول ۱).

نتایج مقایسه میانگین در سطح "نوع پیوند اسکنه‌ای" نشان داد که درصد موفقیت پیوند در روش پیوندی اسکنه‌ای سبز در مقایسه با روش پیوند اسکنه‌ای خشبی به‌طور معنی‌داری بالاتر بود (۸۳ درصد در برابر ۷۰ درصد) (شکل ۳). از سوی دیگر، برخلاف درصد موفقیت پیوند، میانگین رشد پیوندک یک‌ساله در پیوند اسکنه‌ای خشبی در مقایسه با پیوند اسکنه‌ای سبز به‌طور معنی‌داری بیشتر بود (۱۴۵ سانتی‌متر در برابر ۱۳۱ سانتی‌متر) (شکل ۳).

در سطح ارقام پیوندشده (صرف نظر از نوع پیوند اجراشده به‌دلیل عدم معنی‌داری اثر پیوند×رقم)، درصد موفقیت پیوند در محدوده ۱۰۰-۲۰۰ درصد ثبت گردید. نتایج نشان داد که رقم 'ترکمن ۴' و 'آتوم‌رویال' به‌ترتیب با ۱۰۰ و ۹۰ درصد موفقیت پیوند نسبت به سایر ارقام موفق‌تر بوده‌اند. درصد موفقیت پیوند سایر ارقام به‌صورت ذیل ثبت گردید (شکل ۴).

'آتوم‌کینگ'<'پرلت'<'فلم‌سیدلس'، 'روبی‌سیدلس'<'آتوم-رویال'، 'ترکمن ۴'

از نظر رشد پیوندک یک‌ساله نیز رقم 'آتوم‌رویال' و 'ترکمن ۴' به‌ترتیب با ۱۸۱ سانتی‌متر و ۱۵۰ سانتی‌متر جایگاه اول و دوم را به خود اختصاص دادند؛ با این‌وجود تنوع کمتری در خصوص این صفت

در مقایسه با درصد موفقیت پیوند در بین ارقام پیوندشده مشاهده گردید (شکل ۴).

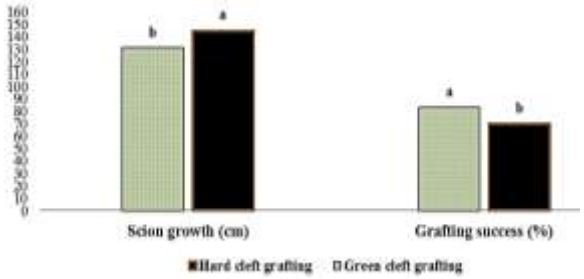
جدول ۱- تجزیه واریانس موفقیت پیوند و رشد پیوندک ارقام در سرشاخه کاری به‌روش اسکنه‌ای روی پایه 'بی‌دانه سفید' (۱۴۰۱)

Table 1- Analysis of variance for grafting success and scion growth of cultivars in the top-working by Cleft grafting on the 'Bidaneh Sefid' rootstock (2022)

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean of squares	
		موفقیت پیوند Grafting success	رشد پیوندک Scion growth
تکرار Replication (R)	2	49.9**	48.08**
پیوند اسکنه‌ای Clef grafting (Cg)	1	43.06*	52.04**
خطای ۱ Error I	2	0.412	0.68
رقم Cultivar (C)	5	160.01**	3854.05**
پیوند × رقم C × Cg	5	0.114ns	1.010ns
خطا ۲ Error II	20	13.09	3.90
ضریب تغییرات C.V(%)	-	5.250	1.84

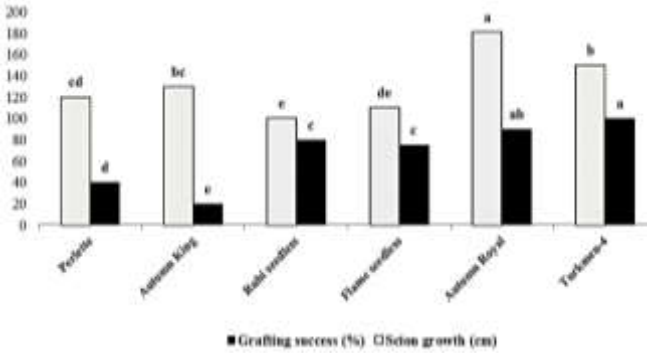
**، * و ns: به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد، پنج درصد و غیرمعنی‌دار

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



شکل ۳- مقایسه موفقیت پیوند و رشد پیوندک بر روی پایه 'بی‌دانه سفید' در پیوند اسکنه‌ای خشبی و سبز در سال اول

Figure 3- The grafting success and scion growth on the 'Bidaneh sefid' rootstock in Hard and Green- cleft graftings in the first year (LSD, *p≤0.05*)



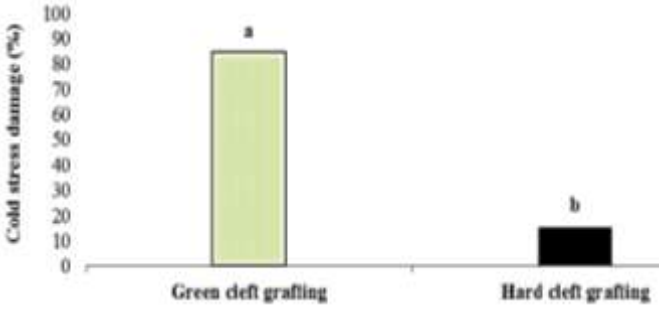
شکل ٤- مقایسه موفقیت پیوند و رشد پیوندک ارقام انگور بر روی پایه 'بی‌دانه سفید' در سال اول

Figure 4- The grafting success and scion growth of grape cultivars on the 'Bidaneh sefid' rootstock in the first year (LSD, *p≤0.05*)

نتایج ارزیابی درصد خسارت ناشی از تنش سرما صرف نظر از میزان شدت خسارت در سال اول نشان داد که بیشترین خسارت معنی‌دار بر تاک‌های پیوندی به‌روش اسکنه‌ای سبز بوده است (شکل ۵).

در سطح ارقام، نتایج نشان داد که دو رقم 'آتومرویال' و 'ترکمن ۴' با کمترین درصد و میزان شدت خسارت (به‌ترتیب ۷/۵ و ۱۲/۵درصد خسارت از نوع مرگ‌ومیر در جوانه‌های شاخه‌های پیوندک یک‌ساله) ناشی از سرمای زمستانه (اولین تنش سرمایی بعد از عملیات سرشاخه‌کاری به مدت ۱۲روز پیاپی در محدوده دمایی ۴/۱- تا ۱۳/۶- درجه سلسیوس در دی ماه)، هیچ‌گونه تلفاتی از سرمای دیررس بهاره (دومین تنش سرمایی بعد از عملیات سرشاخه‌کاری در محدوده دمایی ۰/۹- تا ۱/۲- درجه سلسیوس به‌مدت دو روز پیاپی در اواسط اردیبهشت‌ماه) نشان ندادند؛ درحالی‌که بیشترین میزان شدت خسارت (خشک شدن شاخه پیوندک یک‌ساله) و درصد خسارت ناشی از سرمای زمستانه و سرمای دیررس بهاره به‌ترتیب به ارقام 'روبی- سیدلس' و 'پرلت' اختصاص داشت (جدول ۲).

نتایج مقایسه درصد خسارت ناشی از تنش سرما بین ارقام پیوندشده براساس آزمون z نشان داد که دو رقم 'آتومرویال' و 'ترکمن ۴' با کمترین درصد خسارت در جایگاه برتری قرار گرفتند (جدول ۲) و رقم 'پرلت' با ۳۷/۵۰ درصد خسارت حساس‌ترین رقم به اولین سرمای زمستانه و بهاره بعد از عملیات سرشاخه‌کاری شناخته شد. از سوی دیگر، شدت خسارت در دو رقم 'آتومرویال' و 'ترکمن ۴' به‌طور قابل ملاحظه‌ای متفاوت از سایر ارقام بود (جدول ۲).



شکل ۵- خسارت ناشی از تنش سرما پیوندک‌ها در پیوند اسکنه‌ای خشبی و سبز در سال اول

Figure 5- The cold stress damage on scions in Hard and Green -cleft grafting at the first year (LSD, $p \leq 0.05$)

جدول ۲- درصد و شدت خسارت ناشی از تنش سرمای زمستانه و سرمای دیررس بهاره به پیوندک روی پایه 'بی‌دانه سفید'

Table 2- Percentage and severity of damage caused by winter and late spring cold stress to scions grafted on the 'Bidaneh sefid' rootstock

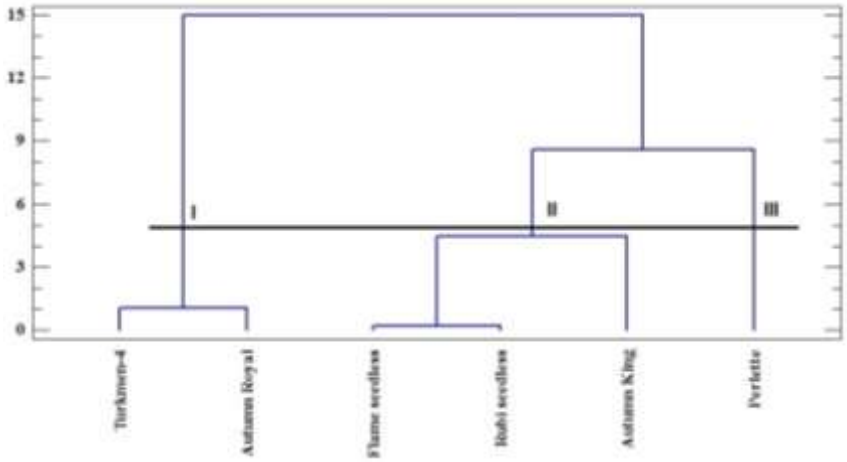
ارقام Cultivars	شدت خسارت ناشی از سرمای زمستانه Severity of damage caused by winter cold stress	درصد خسارت ناشی از تنش سرمای زمستانه Percentage damage caused by winter cold stress	شدت خسارت ناشی از سرمای دیررس بهاره Severity of damage caused by late spring cold stress	درصد خسارت ناشی از تنش سرمای دیررس بهاره Percentage damage caused by late spring cold stress	درصد کل خسارت ناشی از تنش سرمای زمستانه و بهاره Percentage total damage caused by winter and late spring cold stress
ترکمن ۴ Turkmen-4	مرگ جوانه Bud death	12.5	-	0	12.5^{d*}
فلم‌سیدلس Flame seedless	پیوندک خشکیده Withered scions	10	پیوندک خشکیده Withered scions	10	20^{b}
روبی‌سیدلس Rubi seedless	پیوندک خشکیده Withered scions	27.5	پیوندک خشکیده Withered scions	5	15^{c}
پرلت Perlette	پیوندک خشکیده Withered scions	25	پیوندک خشکیده Withered scions	12.5	37.50^{a}
آتومرویال Autumn Royal	مرگ جوانه Bud death	7.5	-	0	7.5^{e}
آتوم‌کینگ Autumn King	پیوندک خشکیده Withered scions	12.5	پیوندک خشکیده Withered scions	7.5	20^{b}

* حروف غیرمشترک در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار براساس آزمون z فیشر در سطح احتمال یک درصد می‌باشد.

* Non-common letters in each column indicate significant differences based on Fisher's z test at the 1% probability level.

لازم به ذکر است که در سال دوم و سوم با وجود سرمای طبیعی منطقه شازند (میانگین ۱۰- درجه سلسیوس در زمستان) علائمی از سرمازدگی در شاخه‌های پیوندی باقی‌مانده از سال اول مشاهده نگردید.

در ادامه به‌منظور بررسی ارتباط بین ارقام پیوندشده روی پایه 'بی‌دانه سفید' براساس ارزیابی‌های سال اول، تجزیه خوشه‌ای انجام گردید و سه گروه تشکیل گردید. در گروه اول ارقام 'آتوم‌رویال' و 'ترکمن ۴'، در گروه دوم ارقام 'آتوم‌کینگ'، 'فلم‌سیدلس' و 'روبی‌سیدلس' و در گروه سوم رقم 'پرلت' قرار گرفتند (شکل ۶). مقایسه میانگین گروه‌ها نشان داد که گروه اول با داشتن بیشترین درصد موفقیت پیوند و رشد پیوندک یک‌ساله و همچنین کمترین خسارت ناشی از تنش سرمای زمستانه و بهاره در مقایسه با دو گروه دیگر در جایگاه برتری قرار داشت (جدول ۳).



شکل ٦- دندروگرام شش رقم پیوندشده روی پایه 'بی‌دانه سفید' براساس درصد موفقیت پیوند، رشد پیوندک (سانتی‌متر) و درصد خسارت ناشی از تنش سرمای زمستانه و دیررس بهاره در سال اول

Figure 6- Dendrogram of six grape cultivars grated on the 'Bidaneh sefid' rootstock based on the grafting success (%), scion growth (cm) and damage caused by winter and late spring cold stress (%) at the first year using Ward clustering method

جدول ۳- سه گروه حاصل از تجزیه خوشه‌ای براساس موفقیت پیوند، رشد پیوندک و خسارت ناشی از تنش سرما

Table 3- Three groups obtained from cluster analysis based on the grafting success, scion growth and damage caused by cold stress

صفت Trait	میانگین گروه Group means		
	گروه اول Group I	گروه دوم Group II	گروه سوم Group III
موفقیت پیوند (درصد) Grafting success (%)	95.00±7.07^{a*}	58.30±33.29^{b}	40.00±1.0^{c}
رشد پیوندک (سانتی‌متر) Scion growth (cm)	165.5±21.92^{a}	113.3±15.27^{c}	120.00±5.0^{b}
خسارت ناشی از تنش سرما (درصد) Damage caused by winter and late spring cold stress (%)	10.00±3.53^{c}	18. 33±2.88^{b}	37.75±2.2^{a}

* میانگین‌های هر ردیف که با حروف یکسان مشخص شده‌اند، از نظر آماری با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار در سطح معنی‌داری یک درصد تفاوت ندارند.

* Means in each row followed by the same letter are not statistically different based on LSD test at $P < 0.01$ (± value is the SD)

براساس مطالعات انجام‌شده، بهترین زمان برای عملیات سرشاخه‌کاری تاک‌های انگور در روش اسکنه‌ای خشبی قبل از شروع رشد تاک و برای پیوند اسکنه‌ای سبز در زمان رشد شاخه‌های ترد و آبدار است (Mahmoudzadeh, 2003). تفاوت معنی‌دار بین میزان گیرایی پیوند در روش اسکنه‌ای خشبی و سبز در مطالعه حاضر با برتری پیوند اسکنه‌ای سبز و مطابق با مطالعات آسونکائو و همکاران (Assunção et al., 2019) حاکی از آن است که نوع پیوند، زمان انتخاب‌شده و همچنین شرایط محیطی منطقه شازند برای سرشاخه‌کاری انگور مناسب بود. ورما همکاران (Verma et al., 2010) و همچنین پاتیرانا و مک‌کنزی (Pathirana & McKenzie, 2005)

به نقش شرایط محیطی منطقه، زمان اجرا و مدیریت بعد از عملیات پیوند بر موفقیت پیوند اسکنه‌ای سبز و سایر پیوندهای شاخه‌بریده اشاره نمودند. براساس مطالعات انجام‌شده، درصد گیرایی پیوند به توزیع کربوهیدرات‌ها در اطراف محل پیوند نیز مرتبط است. در واقع، تجمع کم نشاسته در بالا و پایین محل پیوند باعث جوش خوردن بهتر محل پیوند و انتقال کافی مواد غذایی به ریشه و بالعکس می‌گردد؛ درحالی‌که تمرکز کربوهیدرات‌ها در محل پیوند باعث فساد و بسته شدن آوندهای آبکش می‌شود (Hossein et al., 2008). علاوه‌بر این براساس منگومبا و همکاران (Mng"omba et al., 2010) موفقیت در گیرایی پیوند تا حدود زیادی به هم‌ترازی بافت‌های پارانشیمی پایه و پیوندک و مهارت پیوندزنندگان بستگی دارد.

در مطالعه حاضر، تفاوت معنی‌داری بین رشد رویشی پیوندک‌های یک‌ساله در سطح پیوند و رقم مشاهده گردید. در این خصوص، به نظر می‌رسد که زمان پیوند بر این ویژگی تأثیر گذار بوده است. پیوند اسکنه‌ای خشبی قبل از آغاز رشد فعال گیاه اجرا می‌شود و تا قبل از مساعد شدن شرایط آب‌وهوایی برای شروع رشد و نمو جوانه‌ها، فرصت کافی برای برقراری ارتباط بین پایه و پیوندک فراهم می‌گردد؛ ازاین‌رو در مقایسه با پیوند اسکنه‌ای سبز از لحاظ زمانی (حدود دو ماه) پیشتاز بوده و منجر به بروز تفاوت معنی‌دار در رشد رویشی پیوندک‌های یک‌ساله می‌گردد. نتایج مشابهی نیز در این خصوص توسط بورین و شارلوت (Bourrain & Charlot, 2014) گزارش گردید. در خصوص تفاوت مشاهده‌شده در سطح رقم برای ویژگی مورد اشاره نیز، بررسی نقش پایه و پیوندک در پیوند قابل تأمل است. در عملیات سرشاخه‌کاری پایه به‌عنوان ریشه، نقش جذب آب و عناصر غذایی برای گیاه (پیوندک) را بر عهده دارد و پتانسیل پایه‌ها در این خصوص با یکدیگر متفاوت می‌باشد (East et al., 2021)؛ ازآنجاکه در مطالعه حاضر از یک رقم (’بی‌دانه سفید‘) به‌عنوان پایه استفاده گردید؛ ازاین‌رو تأثیر پتانسیل رقم پایه بر تفاوت رشد رویشی پیوندک قابل چشم‌پوشی است. با این‌وجود در تأیید فرضیه‌های بیان‌شده، تحقیقات انجام‌شده روی پایه‌های گلابی (*Pyrus communis*) و سیب نشان داده است که نوع پایه بر کنترل اندازه درخت مؤثر بود؛ به‌طوری که پایه‌های پاکوتاه به‌دلیل حجم کم ریشه منجر به کاهش رشد اندام‌های هوایی گردیدند (Jackson, 2003). از سوی دیگر، با توجه به مدیریت یکسان تاکستان برای همه ارقام از نظر شرایط تغذیه و کوددهی، به نظر می‌رسد که علاوه بر نقش پایه، احتمالاً پتانسیل متفاوت ارقام از نظر ژنتیکی در استفاده از عناصر و به‌دنبال آن ایجاد تفاوت در غلظت عناصر غذایی در برگ نیز می‌تواند بر رشد رویشی اندام‌های هوایی گیاه مؤثر باشد (Fallahi et al., 2002). علی‌رغم اینکه تفاوت غلظت عناصر غذایی اندام‌های هوایی پیوندک به‌خصوص برگ، بعد از عملیات سرشاخه‌کاری در مطالعه حاضر بررسی نگردید، در سایر مطالعات این فرضیه مورد تأیید قرار گرفته است. به‌طوری که ایکینچی و همکاران (Ikinci et al., 2014) نشان دادند که در پیوند ارقام گلابی روی پایه‌های متفاوت، ارقام گلابی پیوندشده روی پایه‌های پاکوتاه در مقایسه با ارقام پابلند دارای غلظت کمتری از عناصر کم‌مصرف بودند و از سوی دیگر بر روی یک پایه مشابه، تفاوت معنی‌داری بین غلظت عناصر در برگ ارقام پیوندشده بر روی پایه مورد نظر مشاهده شد. تچونژو و همکاران (Tchoundjeu et al., 2010) نیز گزارش دادند که تفاوت رشد شاخه در پیوندهای مختلف ممکن است به‌دلیل تفاوت غلظت مواد مانند مقدار کربوهیدرات در گیاه باشد.

نتایج ارزیابی خسارت تنش سرما در فصل زمستان، به‌عنوان اولین سرمای منطقه بعد از عملیات سرشاخه‌کاری، نشان داد که بیشترین خسارت مربوط به تاک‌های پیوندی به‌روش اسکنه‌ای سبز بود، که احتمالاً می‌تواند ناشی از عدم شکل‌گیری یا شکل‌گیری ناقص ساختار چوبی آوندها باشد. مشابه با نتایج مطالعه حاضر، سبیر (Sabir, 2011) نیز گزارش داد که اگرچه درصد رشد شاخه‌های پیوندشده بلافاصله بعد از پیوند در روش پیوند اسکنه‌ای سبز نسبت به پیوند اسکنه‌ای خشبی بیشتر بود؛ ولی چوبی‌شدن و به‌دنبال آن گذر موفق از تنش حاصل از دمای پایین زمستان با حداقل خسارت، در پیوند اسکنه‌ای خشبی رخ داد.

صرف نظر از نوع پیوند انجام‌شده، تفاوت معنی‌داری بین شدت و درصد خسارت به ارقام پیوندک در طی تنش سرمایی در مطالعه حاضر مشاهده شد. ازآنجایی‌که درصد قابل توجهی از صفات تحمل در برابر سرما توسط پایه کنترل می‌شود و پایه قابلیت انتقال این مقاومت را به پیوندک دارد (Nejatian, 2013)، لذا با توجه به یکسان بودن رقم پایه برای کلیه ارقام، می‌توان نقش پایه در این تفاوت معنی‌دار را نادیده گرفت. ازاین‌رو در وهله اول به نظر می‌رسد که تفاوت پتانسیل میزان تحمل به سرما ارقام استفاده‌شده برای عملیات سرشاخه‌کاری در مطالعه حاضر می‌تواند دلیلی برای این مسئله باشد. براساس مطالعات انجام‌شده توسط نجاتیان (Nejatian, 2013)، ارقام خارجی انگور در مقایسه با ارقام ایرانی از حساسیت بیشتری نسبت به سرما برخوردار هستند. به‌طوری که رقم ’بی‌دانه سفید‘ و رقم ’ترکمن ۴‘ به‌عنوان ارقام نیمه‌متحمل تا نیمه‌حساس با آستانه تحمل به سرما ۱۵±۱- تا ۱۷±۱- درجه سلسیوس و ارقام خارجی ’پرلت‘،’فلم‌سیدلس‘ و ’روبی‌سیدلس‘ به‌عنوان ارقام حساس به سرما با آستانه تحمل کمتر از ۱۵±۱- درجه سلسیوس گروه‌بندی شدند (Nejatian, 2013). گیاهان پس از کاهش دما تا یک حد بحرانی برای حفظ ساختارهای سلولی، سیستم محافظتی خود را فعال می‌کنند؛ لذا به نظر

می‌رسد که شرایط دمایی حاکم در منطقه شازند در زمستان ۱۴۰۱ (دمای کمتر از حد آستانه تحمل ارقام انگور خارجی: ۴- درجه سلسیوس) توانسته است که سیستم حافظتی در برابر خسارت تنش سرما را در ارقام مورد استفاده فعال نماید و علاوه‌براین، حد آستانه تحمل این ارقام را به‌عنوان پیوندک‌های یک‌ساله به کمتر از ۱۴- درجه سلسیوس کاهش دهد. به‌طوری که در ارقام خارجی مورد استفاده به‌استثناء رقم 'آتوم‌رویال' و 'ترکمن ۴' شدیدترین خسارت یعنی خشک شدن شاخه‌های پیوندک یک‌ساله مشاهده گردید. در خصوص سرمای بهاره، شاخه‌های سبز توانایی تحمل دمای کمتر از دو درجه سلسیوس را ندارند و در کمتر از این دما، آسیب می‌بینند (Ershadi & Taheri, 2013) و این سرما گاهی تا ۹۰ درصد محصول تاکستان را از بین می‌برد (Fennell, 2004). خطر سرمازدگی برگ‌ها، شاخه‌های سبز و خوشه‌های گل انگور در اوایل فصل رشد در اکثر ارقام تجاری-خارجی انگور وجود دارد (Ershadi, & Taheri, 2013) و اکثر رقم‌های تجاری-خارجی انگور حساس به سرما هستند و سرمازدگی می‌تواند باعث کاهش بهره‌وری و کیفیت محصول و حتی کاهش بقای گیاه شود (Hamman et al., 1996). در منطقه شازند با شرایط دمایی عنوان‌شده، بین رتبه‌بندی پیوندک‌ها از نظر تحمل به سرمای زمستانه، با تحمل به سرمای بهاره نوعی هماهنگی مشاهده گردید. نتایج مشابهی نیز توسط مرادی حیدرآباد و ارشادی (Moradi Heidarabad & Ershadi, 2021) مبنی بر وجود رابطه قوی بین تحمل به سرمای زمستانه و سرمای فصل رشد برای رقم‌های انگور مورد ارزیابی (داخلی و خارجی) در سرمای ۴- درجه سلسیوس گزارش گردید.

ارزیابی میدانی میزان خسارت تاک‌های پیوندی ناشی از تنش سرما در سال دوم (۱۴۰۲) و سوم (۱۴۰۳) نشان داد که علی‌رغم سرمای معمول ۸- تا ۱۰- درجه سلسیوس در فصل زمستان منطقه شازند، خسارت سرمازدگی در تاک‌های پیوندی مشاهده نگردید. بنابراین به نظر می‌رسد که توانایی پیوندک‌ها برای تحمل سرما به‌خصوص سرمای زمستان در سال اول پیوند اهمیت ویژه‌ای دارد. ازاین‌رو، با در نظر گرفتن صفات اندازه‌گیری‌شده در سال اول و نتایج تجزیه خوشه‌ای، دو رقم 'آتوم‌رویال' و 'ترکمن ۴'، منتخب مناسبی برای برنامه‌های سرشاخه‌کاری انگور رقم 'بی‌دانه سفید' در منطقه شازند یا مناطقی با شرایط آب‌وهوایی همانند شازند می‌باشند.

سال سوم

نتایج تجزیه واریانس داده‌های سال سوم (۱۴۰۳) نشان داد که اثر پیوند و رقم (اثرات ساده) بر عملکرد و اجزای عملکرد (قطر حبه، عرض حبه، وزن حبه، طول خوشه، عرض خوشه و وزن خوشه) معنی‌دار بود؛ درحالی‌که برای صفات مورد اشاره، اثر معنی‌داری از منبع رقم × پیوند مشاهده نگردید (جدول ۴).

مقایسه میانگین داده‌ها در سطح روش پیوند اسکنه‌ای نشان داد که پیوند اسکنه‌ای خشبی در مقایسه با اسکنه‌ای سبز منجر به افزایش ۲۰ درصدی در عملکرد میوه (کیلوگرم/تاک)، و همه اجزای عملکرد به‌استثناء وزن حبه گردید. در خصوص وزن حبه، افزایش ۲/۲ برابری در روش پیوند اسکنه‌ای خشبی در مقایسه با پیوند اسکنه‌ای سبز برای این ویژگی مشاهده شد (جدول ۵).

با توجه به عدم معنی‌داری اثر متقابل رقم × پیوند، مقایسه میانگین در سطح ارقام پیوندشده نشان داد که رقم 'آتوم‌رویال' برای عملکرد میوه و اجزای عملکرد تفاوت معنی‌داری با سایر ارقام داشته و از نظر موقعیت جایگاه نخست را به خود اختصاص داد (جدول ۶).

نتایج ارزیابی کیفی میوه ارقام پیوندشده روی پایه 'بی‌دانه سفید' نشان داد که اثر پیوند و اثر پیوند × رقم بر میزان مواد جامد محلول میوه و شاخص طعم معنی‌داری نبود (جدول ۴)؛ بااین‌وجود، اثر رقم بر شاخص‌های کیفی ذکرشده معنی‌دار بود (جدول ۴).

با رسیدن میوه، مقدار مواد جامد قابل حل میوه (TSS) افزایش می‌یابد و این افزایش ناشی از شکسته شدن کربوهیدرات‌های پلیمری (پلی ساکاریدها) مربوطه در زمان رسیدگی میوه است (Mohammadi et al., 2017). میوه‌های انگور برای قابل پذیرش بودن توسط مصرف‌کنندگان از نظر تجاری نیاز به حداکثر مقدار مواد جامد قابل حل دارند. مصرف‌کنندگان، میوه‌های شیرین با مواد جامد قابل حل بیشتر از ۱۳ درصد را نسبت به میوه‌هایی با مواد جامد قابل حل کمتر از ۱۳ درصد ترجیح می‌دهند، امّا کاهش بیشتر در مواد جامد قابل حل منجر به فسادپذیری و کاهش کیفیت میوه می‌شود (Mohammadi et al., 2017). بااین‌وجود در برخی از منابع حداقل مواد جامد قابل حل قابل قبول برای میوه انگور حداقل ۱۷/۵-۱۴ بریکس در نظر گرفته شده است (Kader, 2003). براساس هر دو معیار ذکرشده برای مقدار مواد جامد قابل حل، دو رقم 'ترکمن ۴' و 'آتوم‌رویال' در مقایسه با دیگر ارقام برتری معنی‌داری نشان دادند (جدول ۶)؛ بااین‌وجود میوه همه ارقام خارجی مورد استفاده به‌عنوان پیوندک در مطالعه حاضر از کیفیت مطلوبی از نظر طعم، سفتی و بازارپسندی برخوردارند. اگرچه براساس پژوهش‌های انجام‌شده پایه می‌تواند بر شاخص‌های کیفی میوه انگور از جمله محتوای قندها، اسیدها و ترکیبات فنلی تأثیر بگذارد، بااین‌وجود تأثیر رقم در مقایسه با پایه بر شاخص مواد جامد قابل حل قوی‌تر است (Kowalczyk et al., 2022).

جدول ٤- تجزیه واریانس اثر پیوند اسکنه‌ای و رقم بر عملکرد، اجزای عملکرد و برخی شاخص‌های کیفی میوه ارقام انگور پیوندشده روی پایه 'بی‌دانه سفید'

Table 4- Analysis of variance for the effect of cleft grafting and cultivar on yield, yield components and qualitative index of fruit of grape cultivars grafted on 'Bidaneh sefid' rootstock at the third years

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean of squares								
		طول حبه Berry length	قطر حبه Berry diameter	وزن حبه Berry weight	طول خوشه Cluster length	عرض خوشه Custer width	وزن خوشه Cluster weight	عملکرد Yield	مواد جامل قابل حل TSS	شاخص طعم Flavor index
تکرار Replication (R)	2	20.01**	14.17**	0.82**	0.94^{ns}	18.01**	48293.12**	991.07**	3.99^{ns}	0.09 ^{ns}
پیوند اسکنه‌ای Clef grafting (Cg)	1	11.53**	12.01**	0.12**	11.05*	8.62**	532.52**	4.94**	8.91^{ns}	0.001^{ns}
خطای ۱ Error I	2	0.019	0.69	0.009	0.001	0.019	7.62	0.039	0.030	0.2
رقم Cultivar (C)	5	181.034**	101.01**	6.91**	7.94**	8.23**	105100.42**	336.94**	15.01**	2.07**
پیوند × رقم C × Cg	5	0.03^{ns}	0.04^{ns}	0.009^{ns}	0.0002^{ns}	0.04^{ns}	13.09^{ns}	0.67^{ns}	0.03^{ns}	0.22^{ns}
خطا ۲ Error II	20	0.39	1.32	0.05	1.98	0.95	2099.99	4.91	0.39	0.42
ضریب تغییرات C.V (%)	-	2.99	6.70	6.52	5.99	6.99	7.99	13.77	2.99	1.91

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

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

جدول ٥- عملکرد و اجزای عملکرد تاکستان سرشاخه کاری‌شده به‌روش پیوند اسکنه‌ای خشبی و سبز در سال سوم

Table 5- Yield and yield components of vineyard top-working by Hard and Green- cleft grafting at the third year

پیوند اسکنه‌ای Cleft grafting	طول حبه Berry length (mm)	قطر حبه Berry diameter (mm)	وزن حبه Berry weight (g)	طول خوشه Cluster length (cm)	عرض خوشه Custer width (cm)	وزن خوشه Cluster weight (g)	عملکرد Yield (kg.vine^{-1})
اسکنه‌ای خشبی Hard-cleft grafting	18.00^{a*}	20.88^{a}	7.66a	23.66^{a}	17.16^{a}	500.57^{a}	17.10^{a}
اسکنه‌ای سبز Green-cleft grafting	15.16^{b}	17.38^{b}	3.55^{b}	20.01^{b}	15.1^{b}	400.61^{b}	14.39^{b}

* میانگین‌های هر ستون که با حروف یکسان مشخص شده‌اند، از نظر آماری با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار در سطح معنی‌داری یک درصد تفاوت ندارند.

* Means in each column followed by the same letter are not statistically different based on LSD test at $P < 0.01$ (± value is the SD)

از سوی دیگر، مزه انگور تحت تأثیر مقدار ایده آلی از قند، اسیدهای ارگانیک و مواد فرار می‌باشد؛ ازاین‌رو نسبت مواد جامد قابل حل به اسیدیته قابل تیتراسیون شاخص مناسبی برای ارزیابی کیفیت نهایی انگور (شاخص طعم) و تعیین زمان مناسب بودن میوه برای عرضه به بازار مصرف می‌باشد (Crisosto et al., 2002). براساس پژوهش‌های انجام‌شده، حداقل شاخص طعم یا ضریب رسیدگی برای میوه انگور ۲۰ در نظر گرفته شده است (Obenland et al., 2009)؛ بااین‌وجود نوع مصرف (تازه‌خوری، آب میوه و یا خشک کردن به‌منظور تهیه کشمش)، رقم و منطقه، می‌تواند مقدار قابل قبول برای این معیار را تحت تأثیر قرار دهد (Crisosto et al., 2002). براساس

شاخص طعم، همه ارقام مورد استفاده با توجه به زمان رسیدگی میوه از کیفیت مطلوبی برخوردار بودند و از نظر این ویژگی در سه گروه متمایز قرار گرفتند (جدول ۶).

در مجموع، با وجود تفاوت معنی‌دار بین ارقام پیوندشده روی پایه 'بی‌دانه سفید' از نظر شاخص‌های کیفی مورد اشاره، همه ارقام از نظر کیفیت و بازارپسندی میوه از شرایط قابل قبولی برخوردار بودند. همچنین از شاخص‌های کیفی مورد اشاره می‌توان به‌عنوان معیاری برای انتخاب منطقه کشت نیز بهره برد. ازاین‌رو مطالعات نشان دادند که ارقام انگور با مواد جامد قابل حل بالا و دوره رسیدگی کوتاه (زودرس) برای کشت در مناطق سرد با فصل رشد کوتاه سازگاری بیشتری دارند (Becker & Toldam-Andersen, 2012). بنابراین با توجه به دوره رسیدگی و مواد جامد قابل حل ارقام (جدول ۶)، رقم 'ترکمن ۴' برای مناطقی با فصل رشد کوتاه‌تر و رقم 'آتومرویال' برای مناطقی با فصل رشد طولانی‌تر پیشنهاد می‌شوند.

ارتباط بین صفات ارقام اندازه گیری‌شده در سال سوم

با توجه به اهمیت عملکرد و اجزای عملکرد میوه انگور از نظر تجاری، ضرایب همبستگی بین صفات برای بررسی دقیق‌تر این روابط محاسبه شد. براساس نتایج ضریب همبستگی فنوتیپی ترسیم‌شده (شکل ۷)، ارتباط معنی‌داری بین عملکرد میوه با صفات طول حبه (r = ۰/۹۹۵**)، قطر حبه (r = ۰/۸۴۷**) و وزن حبه (r = ۰/۹۷۵**) مشاهده گردید (طیف رنگ سبز). بااین‌وجود ارتباط معنی‌داری بین عملکرد با سایر ویژگی‌های کمّی اندازه گیری‌شده میوه در سال سوم مشاهده نگردید (طیف رنگی نارنجی و زرد).

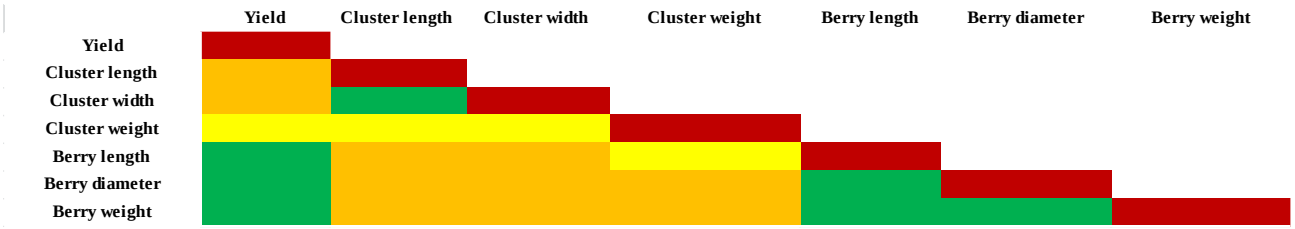
جدول ٦- عملکرد، اجزای عملکرد و شاخص‌های کیفی میوه ارقام پیوندشده روی پایه 'بی‌دانه سفید' در سال سوم

Table 6- Yield, yield components and qualitative index of fruit of cultivars grafted on 'Bidaneh sefid' rootstock in the third year

رقم Cultivar	طول حبه Berry length (mm)	قطر حبه Berry diameter (mm)	وزن حبه Berry weight (g)	طول خوشه Cluster length (cm)	عرض خوشه Custer width (cm)	وزن خوشه Cluster weight (g)	عملکرد Yield (kg.vine^{-1})	مواد جامد قابل حل TSS (Brix)	شاخص طعم Flavor index	زمان رسیدگی میوه Fruit ripening time
ترکمن ۴ Turkmen-4	20.5c	13.5d*	3.25e	22.5c	16.23b	437.7e	16.8b	27.5a	35.25a	Late Aug.
فلم‌سیدلس Flame seedless	17.3ef	16.6bc	2.83d	22.5bc	15.5bc	598.0bc	12.5cd	21.3b	33.32b	Mid Aug.
روبی‌سیدلس Rubi seedless	17.86e	15.6c	3.1cd	20.5c	13.86c	681.0b	11.4cd	20.5c	28.35c	Mid Sept.
پرلت Perlette	16.6f	17.0bc	2.15e	23.5ab	16.5bc	598.0cd	11.1cd	20.4c	27.94c	Late Aug.
آتومرویال Autumn Royal	34.3a	26.8a	8.80a	24.71a	18.0a	773.4a	33.06a	25.2a	31.43b	Mid Sept.
آتوم‌کینگ Autumn King	18.86d	18.5b	3.55c	21.6c	15.9bc	687.0bc	12.8c	19.8c	32.5b	Mid Sept.

* میانگین‌های هر ستون که با حروف یکسان مشخص شده‌اند، از نظر آماری با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار در سطح معنی‌داری یک درصد تفاوت ندارند.

* Means in each column followed by the same letter are not statistically different based on LSD test at $P < 0.01$ (± value is the SD)

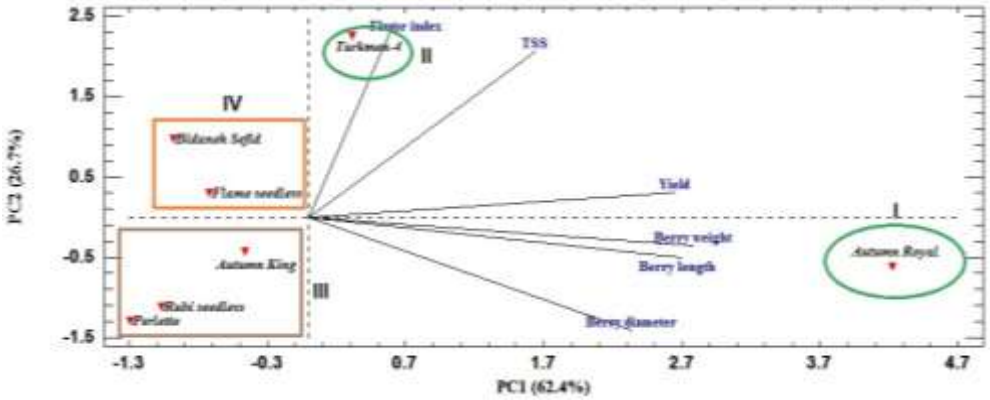


شکل ۷- نمودار حرارتی همبستگی بین عملکرد میوه و برخی ویژگی‌های کمی میوه ارقام پیوندشده روی پایه 'بی‌دانه سفید'

Figure 7- Heat map of the correlation between fruit yield and some quantitative characteristics of the fruit of cultivars grafted on 'Bidaneh sefid' rootstock

در ادامه، صرف نظر از نوع پیوند اجراشده، به‌منظور ارزیابی دقیق‌تر روابط بین ارقام (پایه و پیوندک) و همچنین روابط بین ارقام و شاخص‌های کیفی و برخی صفات کمّی میوه (عملکرد، قطر حبه، طول حبه و عرض حبه) تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA) انجام شد. نتایج نشان داد که دو مؤلفه اول ۸۹/۱۴ درصد از واریانس کل را توجیه نمودند. مؤلفه اول (PC1) بیشترین همبستگی مثبت را با وزن حبه، طول حبه، عملکرد و قطر حبه و مؤلفه دوم (PC2) بیشترین همبستگی را با شاخص‌های کیفی میوه (شاخص طعم و مواد جامد محلول) نشان داد (شکل ۸).

برای گروه‌بندی ارقام (پایه و پیوندک) براساس دو مؤلفه اول و دوم، بای‌پلات ترسیم شد. براساس بای‌پلات ترسیم‌شده، ارقام مورد مطالعه به چهار گروه تقسیم شدند: گروه اول (’آتوم‌رویال‘) و گروه دوم (’ترکمن ۴‘) در مقایسه با گروه سوم (’آتوم‌کینگ‘،’پرلت‘ و ’روبی‌سیدلس‘) و گروه چهارم (’بی‌دانه سفید‘ و ’فلم‌سیدلس‘) از نظر مؤلفه اول در جایگاه برتری قرار داشتند. گروه سوم در مقایسه با سایر گروه‌ها از نظر هر دو مؤلفه اول و دوم در سطح پایین‌تری قرار داشت و از بین ارقام این گروه، رقم ’پرلت‘ کمترین عملکرد، اجزای عملکرد و شاخص‌های کیفی میوه را به خود اختصاص داد. نکته قابل توجه آن است که با توجه به کیفیت قابل قبول میوه از نظر شاخص طعم و مواد جامد قابل حل براساس معیارهای گزارش‌شده در همه ارقام مورد مطالعه (جدول ۶)، توجه به عملکرد میوه و اجزای مرتبط با آن از نظر تجاری و اقتصادی در اولویت می‌باشد. ازاین‌رو براساس بای پلات ترسیم‌شده، ارقام خارجی مورد استفاده در مطالعه حاضر در مقایسه با رقم ’بی‌دانه سفید‘ در موقعیت‌های متفاوتی قرار گرفتند. رقم ’آتوم‌رویال‘ و ’ترکمن ۴‘ از نظر صفات ذکرشده در جایگاه بالاتری نسبت به رقم ’بی‌دانه سفید‘ قرار داشتند؛ درحالی‌که ارقام ’روبی‌سیدلس‘ و ’پرلت‘ برخلاف ارقام ’آتوم‌کینگ‘ و ’فلم-سیدلس‘ به نظر می‌رسد که از نظر عملکرد و صفات وابسته به آن (ویژگی‌های کمّی حبه) در مقایسه با رقم ’بی‌دانه سفید‘ موفق عمل نکرده‌اند.



شکل ۸- بای پلات اولین و دومین مؤلفه‌های اصلی برای گروه‌بندی ارقام انگور (پایه و پیوندک‌ها) براساس شاخص‌های کیفی و برخی صفات کمّی اندازه گیری‌شده میوه در سال سوم

Figure 8- Biplot of the first and second principal components for classification of grape cultivars (rootstock and scions) based on qualitative indices and some quantitative characteristics of the fruit measured at the third year

نتیجه‌گیری

لزوم بازنگری و تغییر رقم با استفاده از ارقام جدید در تاکستان‌های موجود به‌منظور بهره‌برداری اقتصادی تاکداران امری ضروی و اجتناب‌ناپذیر است. نتایج تحقیق حاضر حاکی از آن است که نوع پیوند، زمان انتخاب‌شده و همچنین شرایط محیطی منطقه شازند برای سرشاخه‌کاری انگور مناسب بوده است. بااین‌وجود انتخاب نوع روش پیوند اسکنه‌ای تحت تأثیر شدت و ماندگاری دماهای پایین (به‌طور معمول صفر درجه و کمتر از صفر درجه سیلسیوس) در فصل پاییز و زمستان در منطقه شازند می‌باشد. اگر ماندگاری دمای پایین در فصول یادشده در منطقه شازند یا سایر نقاط استان مرکزی با شرایط آب‌وهوایی مشابه شازند طولانی باشد، احتمال سرمازدگی شاخه‌های رشدیافته از پیوند اسکنه‌ای سبز در سال اول افزایش می‌یابد؛ ازاین‌رو در چنین شرایطی باید از پیوند اسکنه‌ای خشبی جهت سرشاخه‌کاری تاکستان‌های داربستی استفاده نمود. در صورت استفاده از پیوند اسکنه‌ای سبز در چنین مناطقی در سال اول بعد از پیوند، شاخه‌های رشدیافته باید به‌وسیله فوم پوشانده شوند تا از سرمازدگی محافظت گردند. از سوی دیگر، با در نظر گرفتن موقعیت ارقام و صفات بر روی بای‌پلات ترسیم‌شده و همچنین گروه‌بندی ارقام براساس صفات

ارزیابی‌شده در سال اول، به نظر می‌رسد که بتوان رقم‌های 'آتوم-رویال' و 'ترکمن ۴' را به‌عنوان منتخبانی مناسب و امیدبخش به‌دلیل عملکرد کمّی و کیفی قابل قبول و اقتصادی، برای اهداف سرشاخه‌کاری تاکستان‌های منطقه شازند با پایه 'بی‌دانه سفید' معرفی نمود. از سوی دیگر، با توجه به زمان متفاوت رسیدگی میوه و میزان مواد جامد قابل حل میوه در این دو رقم، به نظر می¬رسد که در مناطقی از استان مرکزی که بارندگی‌های زودرس پاییزه وجود دارد، بتوان از رقم 'ترکمن ۴' به‌دلیل زودرسی در مقایسه با سایر ارقام مورد مطالعه در این تحقیق، برای اهداف سرشاخه‌کاری تاکستان‌ها (با پایه 'بی‌دانه سفید') یا احداث تاکستان‌های جدید استفاده نمود. همچنین رقم 'آتوم‌رویال' را به‌دلیل شاخص رسیدگی کمتر در مقایسه با رقم 'ترکمن ۴' و دیررس بودن نسبت به سایر ارقام مورد مطالعه می‌توان برای سایر مناطق استان مرکزی با تابستان‌های طولانی نیز منتخب کرد.

سپاسگزاری

پژوهش حاضر در قالب طرح تحقیقاتی مصوب به‌شماره ۹۹۰۵۱۷-۹۹۰۲۲-۰۷۹-۳۳-۶۱-۱۲۴، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی مرکز تحقیقات، آموزش ترویج کشاورزی و منابع طبیعی استان مرکزی انجام گردید.

References

1. Agricultural Statistics. (2022). Ministry of Jihad and Agriculture, Planning and Economic Deputy, Information and Communication Technology Center, Tehran, Iran. (In Persian)
2. Ajamgard, F., Taslimpour, M. R., Hajiamiri, A. M., Golmohammadi, M., Shafie, Z. A., Yavari, N. R., & Esmaeili, A. (2023). Determination of the optimal time for topworking of olive (*Olea europaea* L.) trees in different regions of Iran. *Seed and Plant*, *39*, 1-25. (In Persian). https://doi.org/10.22092/spj.2023.362227.1307
3. Asadi, W., Rasouli, M., Gholami, M., & Maleki, M. (2020). Effect of some cultivars of native grapevine as rootstocks and triachenetanol on the physiology of 'Bidaneh Sefid' grapevine scion (*Vitis vinifera* L.), under drought stress. *Iranian Journal of Horticultural Science*, *51*(2), 709-722. (In Persian). https://doi.org/10.22059/ijhs.2018.262352.1482
4. Assuncao, M., Pinheiro, J., Cruz, S., Brazao, J., Queiroz, J., Dias, J. E. E., & Canas, S. (2019). Gallic acid, sinapic acid and catechin as potential chemical markers of *Vitis* graft success. *Scientia Horticulturae*, *246*, 129-135. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.10.056
5. Assunção, M., Santos, C., Brazão, J., Eiras-Dias, J. E., & Fevereiro, P. (2019). Understanding the molecular mechanisms underlying graft success in grapevine. *BMC plant biology*, *19*, 1-17. https://doi.org/10.1186/s12870-019-1967-8
6. Becker, J. R., & Toldam-Andersen, T. B. (2012). The wine industry in Denmark. *Development*, 90, 100.
7. Børve, J., Weigl, T., & Stensvand, A. (2025). Neonectria ditissima cankers initiated in the second year of the nursery phase and at time of planting of apple trees. *European Journal of Plant Pathology*, 1-13. https://doi.org/10.1007/s10658-025-03027-y
8. Bourrain, L., & Charlot, G. (2014). *In vitro* micrografting of cherry (*Prunus avium* L.'Regina') onto 'Piku® 1'rootstock [*P. avium*× (*P. canescens*× *P. tomentosa*)]. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, *89*(1), 47-52. https://doi.org/10.1080/14620316.2014.11513047
9. Crisosto, C. H., Garner, D., & Crisosto, G. (2002). High carbon dioxide atmospheres affect stored' Thompson seedless' table grapes. *Hort Science*, *37*(7), 1074-1078. https://doi.org/10.21273/HORTSCI.37.7.1074
10. Dwivedi, S. K., Singh, B., & Paljor, E. (2000). Studies on vegetative propagation of apricot (*Prunus armeniaca* L.) through grafting in Ladakh. *Indian Journal of Horticulture*, *57*(1), 39-41.
11. East, K. E., Zasada, I. A., Schreiner, R. P., & Moyer, M. M. (2021). Irrigation and rootstocks to manage northern root-knot nematode during wine grape vineyard establishment. *Plant Health Progress*, *23*(1), 49-56. https://doi.org/10.1094/PHP-06-21-0097-R
12. Ershadi, A., & Taheri, S. (2013). Effect of salicylic acid on spring frost tolerance of grape cultivar 'Bidaneh Sefid'. *Journal of Crops Improvement*, *15*(2), 135-146. (In Persian). https://doi.org/10.22059/jci.2013.36105
13. Fallahi, E., Colt, W. M., Fallahi, B., & Chun, I. J. (2002). The importance of apple rootstocks on tree growth, yield, fruit quality, leaf nutrition, and photosynthesis with an emphasis on 'Fuji'. *Hort Technology*, *12*(1), 38-44. https://doi.org/10.21273/HORTTECH.12.1.38
14. FAO. (2023). Food and Agriculture Organization of the United Nations. www.Fao.org/faostat/#data/QC
15. Fennell, A. (2004). Freezing tolerance and injury in grapevines. *Journal of Crop Improvement*, *10*(1-2), 201-235. https://doi.org/10.1300/J411v10n01_09

16. Ganji Moghaddam, E., Mostafapoor, A., & Zamanipour, M. (2023). Investigation of the effective factors on the success of cherry top-working in Razavi Khorasan province. *Journal of Horticultural Science*, *37*(3), 755-768. (In Persian). https://doi.org/10.22067/jhs.2023.79194.1201
17. Hamman, R. A., Dami, I. E., Walsh, T. M., & Stushnoff, C. (1996). Seasonal carbohydrate changes and cold hardiness of Chardonnay and Riesling grapevines. *American Journal of Enology and Viticulture*, *47*(1), 31-36. https://doi.org/10.5344/ajev.1996.47.1.31
18. Hoseiniyan, F., Amiri, S., Rezazadeh, B. M., Rezazad, B. L., & Dodangeh, S. (2020). Effect of soy protein isolate and TiO_2 edible coating on quality and shelf-life of grapes varieties Hosseini and Ghezel Ozom. *Food Science and Technology*, *17*, 29-41 (In Persian). https://doi.org/10.52547/fsct.17.100.29
19. Hossein, D. G., Farajollah, S., & Hassanpour, H. (2008). Identification of graft incompatibility of pear cultivars on quince rootstock by using isozymes banding pattern and starch. *Asian Journal of Plant Sciences*, *7*, 109-112. https://doi.org/10.3923/ajps.2008.109.112
20. Jackson, J. E. (2003). The Biology of Apples and Pears. New York, United States, Cambridge University Press. 501 p.
21. Kader, A. A. (2003). Quality and safety factors: Definitions and evaluation for fresh horticultural crops. In: Postharvest Technology of Horticultural Crops. Kader, A. A.(Ed.). Third Ed. University of California, Division of Agriculture and Natural Resources, Publication 3311, pp. 279-299.
22. Kennedy, J. A., Saucier, C., & Glories, Y. (2006). Grape and wine phenolics: History and perspective. *American Journal of Enology and Viticulture*, *57*(3), 239-248. https://doi.org/10.5344/ajev.2006.57.3.239
23. Kowalczyk, B., Bieniasz, M., Błaszczyk, J., & Banach, P. (2022). The effect of rootstocks on the growth, yield and fruit quality of hybrid grape varieties in cold climate condition. *Horticultural Science*, *49*(2), 78–88. https://doi.org/10.17221/58/2021-HORTSCI
24. Ladon, T., Chandel, J. S., Sharma, N. C., & Verma, P. (2025). Enhancing nursery production efficiency through optimal epicotyl grafting techniques on walnut (*Juglans regia* L.) under mid-hill conditions of North-Western Himalayas. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 53, 2468-2486. https://doi.org/10.1080/01140671.2025.2489789
25. León, L., Díaz-Rueda, P., Belaj, A., De la Rosa, R., Carrascosa, C., & Colmenero-Flores, J. M. (2020). Evaluation of early vigor traits in wild olive germplasm. *Scientia Horticulturae*, *264*, 109157. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.109157
26. Mahmoudzadeh, H. (2003). Necessity of grafting in the vine. *Objectives and methods, Alborz Educational and Promotional Quarterly, 2*(4), 12-16. (In Persian).
27. Mirfatah, S. M. M., Rasouli, M., Gholami, M., & Mirzakhani, A. (2024). Physiochemical and molecular response of the grafted 'Bidaneh Ghermez' Grape cultivar on native rootstocks to identify tolerant combination to drought stress in vineyard conditions. *Russian Journal of Plant Physiology*, *71*(4), 124. https://doi.org/10.1134/S1021443724605688
28. Mng"omba, S. A., Akinnifesi, F. K., Sileshi, G., & Ajayi, O. C. (2010). Rootstock growth and development for increased graft success of mango (*Mangifera indica*) in the nursery. *African Journal of Biotechnology*, *9*, 1317-1324. https://doi.org/10.5897/AJB10.668
29. Mohammadi, H., Kashefi, B., & Khosh Ghalb, H. (2017). Investigation of Salicylic acid effect in different growth stages on quality and quantity of Grape varieties Rish Baba in Shahrood. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)*, *29*(4), 886-895. (In Persian). https://dor.isc.ac/dor/20.1001.1.23832592.1395.29.4.18.6
30. Moradi Heidarabad, S., & Ershadi, A. (2021). Evaluation of some physiological and biochemical responses of seven commercial grape cultivars to cold stress during the growing season. *Iranian Journal of Horticultural Science*, *52*(1), 213-224. (In Persian). https://doi.org/10.22059/ijhs.2020.290640.1729
31. Mukred, A., & Hrotkó, K. (1989). The effect of the grafting methods on the success rates of grafting and the quality of the grafts. *Horticulturae*, *2*, 13-19.
32. Nejatian, M. A. (2013). Comparison of cold-resistance in some Iranian and European grape cultivars. *Isfahan University of Technology-Journal of Crop Production and Processing*, *3*(7), 157-171. (In Persian).
33. Obenland, D., Collin, S., Mackey, B., Sievert, J., Fjeld, K., & Arpaia, M. L. (2009). Determinants of flavor acceptability during the maturation of navel oranges. *Postharvest Biology and Technology*, *52*(2), 156-163. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2009.01.005
34. Park, J. H., & Sagong, D. H. (2024). Influence of DMSO (Dimethyl sulfoxide) and IBA (Indole-3 butyric acid) treating concentrations by rootstocks on the production of potted nursery stock in the grape 'Heukboseok'. *Korean Journal of Environmental Agriculture*, *43*, 61-71. https://doi.org/10.5338/KJEA.2024.43.06
35. Pathirana, R., & McKenzie, M. J. (2005). A modified green-grafting technique for large-scale virus indexing of grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Scientia Horticulturae*, *107*(1), 97-102. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2005.06.002

36. Rezaee, R., & Naghilou, F. (2015). The effect of grafting method, grafting site covering and foliar application of some mineral elements on the rate of grafting and winter survival in grafted walnut seedlings. *Journal of Horticultural Sciences*, *30*(3), 439-446. (In Persian). https://doi.org/10.22067/jhorts4.v30i3.43402
37. Rezaee, R., & Vahdati, K. (2008). Introducing a simple and efficient procedure for top-working Persian walnut trees. *Journal-American Pomological Society*, *62*(1), 21. https://doi.org/10.71318/apom.2008.62.1.21
38. Sabir, A. (2011). Comparison of green grafting techniques for success and vegetative development of grafted grape cultivars (*Vitis* spp.). *International Journal of Agriculture and Biology*, *13*(4).
39. Tchoundjeu, Z., Tsobeng, A. C., Asaah, E., & Anegbeh, P. (2010). Domestication of Irvingia gabonensis (*Aubry Lecomte*) by air layering. *Journal of Horticulture and Forestry*, *2*(7), 171-179.
40. ValizadehKaji, B., Abbasifar, A., Bagheri, H., Zandievakili, G., & Daryabeigi, A. (2020). First report: Grafting of three Iranian commercial pomegranate cultivars on drought tolerant rootstocks. *International Journal of Horticultural Science and Technology*, *7*(1), 69-79. https://doi.org/10.22059/ijhst.2020.284659.304
41. Verma, S., Singh, S., Patel, V., & Singh, K. (2010). Grafting and stionic effect studies in grape. *Journal of Rural Agricultural* Research, *10*, 1-3.
42. Wheeler, C. E., Vandervoort, C., & Wise, J. C. (2024). Trunk injection to control *Xylosandrus germanus* (*Coleoptera*: *Curculionidae*) in topworked apple trees. *Journal of Economic Entomology*, *117*(1), 366-372. https://doi.org/10.1093/jee/toad217
43. Zenginbal, H., Demir, T., Demirsoy, H., & Beyhan, Ö. (2017). The grafting success of fourteen genotypes grafted on three different rootstocks on production of sweet cherry (*Prunus avium* L.) sapling. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, *16*(1), 133-143.

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

Research Article
Vol. 40, No. 3, Fall 2026, p. 433-451

Evaluation of Morphophysiological and Biochemical Characteristics of *Stevia rebaudiana* Bertoni Treated with Proline Nanoparticles and Liquid Fish Waste Fertilizer in Salinity Stress

Z. Mahdavi[1], B. Esmailpour[1]*, R. Azarmi[1]

1- Department of Horticulture, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
(*- Corresponding author's Email: Esmailpour@uma.ac.ir)

Received: 24 July 2025
Revised: 08 October 2025
Accepted: 04 November 2025
Available Online: 04 November 2025

How to cite this article:
Mahdavi, Z., Esmailpour, B., & Azarmi, R. (2026). Evaluation of morphophysiological and biochemical characteristics of *Stevia rebaudiana* Bertoni treated with proline nanoparticles and liquid fish waste fertilizer in salinity stress. *Journal of Horticultural Science*, *40*(3), 433-451. (In Persian). https://doi.org/10.22067/jhs.2025.94616.1446

Introduction

Stevia rebaudiana Bertoni is plant perennial medicinal of the Asteraceae (Compositae) family. Stevia plants contain many compounds with medicinal properties, importantly steviol glycosides (e.g., stevioside and dulcoside), in the leaves and shoots that are used as natural and useful sweeteners in the food industry. These sweeteners are 30 to 400 times sweeter than glucose and sucrose and calorie-free. Salinity stress causes major constraints factor affects crop production in world. The adverse effects of salinity stress on plant growth can be related to factors e.g. induced osmotic stress and ionic imbalance. Ionic imbalance is due to high presence of sodium and chloride. There are several strategies for reduce salt effects in plants that including have been used biofertilizers, organic fertilizers and nanoparticles. Nanoparticles (NPs) as one of the most important effective methods, to reduce salinity stress condition. Proline (Pro) is one of compatible solutes and cellular protector accumulated in response to abiotic stress. Organic fertilizers reduce reduces the harmful effects of chemical fertilizer and improve the chemical, biological structure of soils, leading to increased crop yield. Fish processing waste is rich in essential proteins, macro and micronutrients that causes reduced salinity stress.

Materials and Method

Stevia seedlings were purchased from a medicinal plant greenhouse (Zargiah) in Shiraz city and planted in 12 L pots. This study was conducted in a factorial experiment and based on a completely randomized design with four replications in the spring-summer of 2022. Planting bed includes containing a mixture of cocopeat and perlite. The plants were first irrigated with half-strength Hoagland's solution and then irrigated with full-strength nutrient solution. The first factor was salinity stress at four levels (0, 30, 60, 90 mM NaCl) and the second factor salinity reducer at five levels (control, 15 and 30 $mg.L^{-1}$ glycine betaine without liquid fish waste fertilizer, 15 and 30 $mg.L^{-1}$ glycine betaine with 15% (v/v) liquid fish waste fertilizer). Then growth parameters, relative water content, a* and b* color indices and total phenol, hydrogen peroxide (H_2O_2), malondialdehyde (MDA), proline, and total carbohydrates were measured. Data were analyzed using SAS 9.1 software by analyzing the means using Duncan's multiple range test, with a significant difference level at $p < 0.05$.

Results and Discussion

Salinity stress significantly decreased plant growth traits. Salinity, increased proline and total phenols, MDA, H_2O_2, EL compared with the control. Fish waste fertilizer with proline nanoparticles increased

Authors retain the copyright. This is an open access article distributed under Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0).
https://doi.org/10.22067/jhs.2025.94616.1446

morphological parameters, RWC, proline, phenols, sugar, and reduced EL, MDA, and H_2O_2. Salinity stress caused a 39% reduction in plant height, 50.24% in root fresh weight, 70.93% in root dry weight, 46.15% in relative water content, 55.93% in a^*color, 51.16% in b^*color, 39.44% in proline, 71.68% total carbohydrate, 42.7% by phenol and 73.33% by hydrogen peroxide by compared to the control. The application of 20 $mg.L^{-1}$ proline nanoparticles simultaneous with liquid fish waste fertilizer resulted in reduction a 31.7% by membrane electrolyte leakage, 56.66% by root sodium, and an increase of 78.23% proline, 72.98% by total carbohydrate, 71.42% root potassium, and 62.45% by root calcium under 90 mM salinity stress compared to the control treatment.

Conclusion

Results showed that salinity due to accumulation in Na^+ and disruption to the absorption of essential nutrients especially N and K, negatively affected plant growth and yield and overall. Proline and fish waste bio-fertilizer with increase in potassium causes open of the stomata, increase of photosynthesis and plant growth. Application of proline especially when used at a concentration of 20 ($mg.L^{-1}$) and fish waste bio-fertilizer could be considered as a sustainable, for the mitigating of salinity stress effects in stevia plants and potentially other crops.

Keyword: Growth characteristics, Organic fertilizer, Sodium chloride, Total carbohydrates

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

مقاله پژوهشی

جلد ۴۰، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۵، ص. ۴۵۱-۴۳۳

ارزیابی ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه استویا (*Stevia rebaudiana* Bertoni) تیمارشده با نانوذرات پرولین و کود ضایعات ماهی در پاسخ به تنش شوری

زهرا مهدوی[۱]- بهروز اسماعیل‌پور[۱]*- رسول آذرمی[۱]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۵/۰۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۸/۱۳

چکیده

شوری به‌عنوان یکی از مهم‌ترین مشکلات جهان به شمار می‌آید. خاک شور باعث کاهش رشد و عملکرد در گیاهان می‌شود. کاربرد نانوذرات و کودهای آلی از جمله روش‌های نوین برای کاهش اثرات تنش شوری هستند. به این منظور، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار انجام شد. تیمارهای مختلف در این آزمایش محلول‌پاشی تعدیل‌کننده‌های شوری در پنج سطح (شاهد، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر پرولین بدون کود مایع ضایعات ماهی، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر پرولین به همراه کود مایع ضایعات ماهی ۱۵ درصد) بود. تنش شوری به‌صورت نمک سدیم - کلرید در غلظت‌های مختلف (صفر، ۳۰، ۶۰، ۹۰ میلی‌مولار) اعمال گردید. نتایج نشان داد که شوری شاخص‌های رشد و محتوای نسبی آب را کاهش داده و رنگیزه a* و b* را تحت تأثیر قرار داده و فعالیت فنل کل، پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، مالون دی‌آلدئید (MDA)، پرولین و کربوهیدرات‌های کل را در مقایسه با نمونه‌های شاهد افزایش داد. تنش شوری ۹۰ میلی‌مولار باعث افزایش ۷۱/۶۸ درصدی کربوهیدرات کل، ۷۳/۳۳ درصدی پراکسید هیدروژن، ۶۷/۴۴ درصدی مالون دی‌آلدئید و ۴۴/۳۹ درصدی محتوای پرولین نسبت به شاهد شد. کاربرد هم‌زمان ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات پرولین با کود ضایعات ماهی منجر به کاهش ۳۱/۷ درصدی نشت الکترولیت غشاء، ۵۶/۶۶ درصدی سدیم ریشه و افزایش ۷۸/۲۳ درصدی پرولین، ۷۲/۹۸ درصدی کربوهیدرات کل، ۷۱/۴۲ درصدی پتاسیم ریشه و ۶۲/۴۵ درصدی کلسیم ریشه تحت تنش شوری ۹۰ میلی‌مولار در مقایسه با شاهد شد. به‌طورکلی، کاربرد نانوذره پرولین همراه با کود مایع ضایعات ماهی، می‌تواند به‌عنوان یک راهکار جدید برای کاهش اثرات تنش شوری در گیاه استویا (*Stevia rebaudiana* Bertoni) و سایر محصولات زراعی و باغی استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: خصوصیات رشد، سدیم کلرید، کربوهیدرات کل، کود آلی

مقدمه

استویا (*Stevia rebaudiana* Bertoni)، متعلق به خانواده (*Compositae*) *Asteraceae*، یک گیاه دارویی و معطر علفی و درختچه بومی برزیل و پاراگوئه است (Kurunc et al., 2020). استان‌های گیلان و مازندران از بهترین شرایط محیطی کشت استویا در ایران به شمار می‌روند، همچنین این گیاه در برخی از شهرهای استان‌های فارس و اصفهان نیز کشت می‌شود (Seraj et al., 2016). این گیاه به‌دلیل برگ‌های شیرینش که حاوی شیرین‌کننده‌های گلیکوزیدی استویول مانند استویوزید و ریبودیوزید A هستند، کشت می‌شود. استفاده از این ترکیبات به‌عنوان یک جایگزین طبیعی و سالم برای شکر و شیرین‌کننده‌های مصنوعی، در سال ۲۰۱۱ توسط مقررات کمیسیون اتحادیه اروپا تأیید شده است. استویا در صنایع نوشیدنی و غذایی اهمیت دارد. همچنین این گیاه به‌دلیل اثرات کاهنده قند خون، کاهنده چربی خون، ضد فشار خون، ضدالتهاب و ضد تکثیر در سلول‌های سرطانی از نظر درمانی اهمیت دارد و دارای اثرات ضدمیکروبی، ضدقارچی و آنتی‌اکسیدانی است (Rojas et al., 2018). تنش‌های محیطی از عوامل محدودکننده اصلی هستند که بر تولید محصولات کشاورزی، کیفیت غذا و امنیت غذایی و تغذیه‌ای جهان تأثیر می‌گذارند. شور شدن آب و خاک، مضرترین مسئله گسترده زیست‌محیطی است که بهره‌وری محصولات کشاورزی را محدود می‌کند. شوری به غلظت نمک‌های

۱- گروه علوم باغبانی و فضای سبز ، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، شهر اردبیل، ایران

(*- نویسنده مسئول: (Email: Esmailpour@uma.ac.ir

https://doi.org/10.22067/jhs.2025.94616.1446

معدنی محلول موجود در خاک‌ها (محلول خاک) و آب‌ها گفته می‌شود. بیش از نیمی از زمین‌های کشاورزی جهان در مناطق خشک و نیمه‌خشک قرار دارند و گرمایش جهانی، شدت و فراوانی خشکسالی و شرایط شور را افزایش می‌دهد. سدیم کلرید، رایج‌ترین نمکی است که در خاک‌ها و آب‌های شور یافت می‌شود، همراه با نمک‌های کلرید، سولفات و کربنات کلسیم، منیزیم و سدیم موجب ایجاد شوری می‌شوند (Riaz et al., 2021). تنش شوری، تنش اسمزی، سمیت یونی و تنش اکسیداتیو را در محصولات کشاورزی ایجاد می‌کند و متعاقب آن ترکیب این تنش‌ها، رشد و نمو گیاهان را از طریق تغییرات در ویژگی‌های ریخت‌شناختی، فیزیولوژیکی، مولکولی و بیوشیمیایی به‌شدت مختل می‌کند. پاسخ‌های گیاه به شوری را می‌توان به گروه‌های زیر تقسیم کرد: پاسخ مستقل از یون که در ساعات اولیه پس از مواجهه رخ می‌دهد و با بسته شدن روزنه‌ها و مهار گسترش سلول‌ها، عمدتاً در ساقه و رشد کلی گیاه مشخص می‌شود و پاسخ وابسته به یون که طی روزها یا حتی هفته‌ها رخ می‌دهد و با کُند شدن فرآیندهای متابولیکی، پیری زودرس و در نهایت مرگ سلولی مشخص می‌شود. بنابراین، یافتن رویکردی جدید برای افزایش مقاومت گیاه در برابر شوری بسیار مهم است (Bahari Saravi et al., 2022). اخیراً مطالعات متعددی در مورد اثرات مضر شوری بر استویا انجام شده است. در این مطالعات مشخص شد که گیاهان استویا تحت تأثیر سطوح مختلف شوری قرار گرفته و این گیاه نسبت به تنش شوری نسبتاً حساس است (Forouzi et al., 2020). نانومواد، که ذراتی با اندازه یک میلیاردم متر هستند، دارای مساحت سطح قابل توجهی هستند و واکنش‌پذیری بالایی را در چندین فرآیند بیولوژیکی نشان می‌دهند. علاوه‌بر این، این مواد از نظر زیست‌محیطی مفید هستند (Ayman et al., 2020). پرولین یک اسید آمینه پروتئین‌زا است که به‌عنوان یک محلول مفید در گیاهان در شرایط بدون تنش و تنش انباشته می‌شود. تجمع پرولین به‌طور طبیعی در سیتوپلاسم رخ می‌دهد، جایی که به‌عنوان یک محافظ اسمزی برای دفاع در برابر تنش اسمزی عمل می‌کند. سطح بالای پرولین در سیتوزول، پتانسیل آب سلولی را به زیر پتانسیل آب خارجی کاهش می‌دهد و جریان آب به داخل سلول‌ها را برای حفظ وضعیت آب سلولی و تورژسانس سلول‌های گیاهی افزایش می‌دهد (de Freitas et al., 2019). پرولین علاوه‌بر عمل به‌عنوان یک اسمولیت برای تنظیم اسمزی، در تثبیت ساختارهای زیر سلولی (به‌عنوان مثال، پروتئین‌ها و غشاها) نقش دارد و پتانسیل ردوکس سلولی را در برابر تنش‌ها تنظیم می‌کند. همچنین گزارش شده است که پرولین در کاهش اثرات مضر اکسیژن فعال نقش دارد، سازگاری نسبت $NADP^+/NADPH$ را حفظ کرده و pH سیتوپلاسمی را کاهش می‌دهد (Hosseinifard et al., 2022). در هنگام تنش، پرولین از فسفوریلاسیون اکسیداتیو میتوکندری برای تولید انرژی برای گیاهان جهت بهبودی از تنش پشتیبانی می‌کند. در گیاهان عالی، پرولین از طریق مسیرهای گلوتامات یا اورنیتین سنتز می‌شود. گزارش شده است که محتوای پرولین در بسیاری از گیاهان در طول تنش شوری افزایش می‌یابد. تجمع پرولین تحت تنش شوری عمدتاً به‌دلیل سنتز تحریک‌شده در بافت، مهار اکسیداسیون پرولین در میتوکندری و توانایی گیاه در حفظ نفوذپذیری غشای میتوکندری رخ می‌دهد (Dai et al., 2018). از دیگر روش‌های کاهش شوری، استفاده از کودهای آلی می‌باشد. در سال ۲۰۱۸، تولید جهانی ماهی به ۱۷۹ میلیون تن رسید که ۱۵۶ میلیون تن از آن برای مصرف انسان استفاده می‌شود. هر ساله حدود ۲۵ درصد از کل ماهی‌های صیدشده در جهان برای مصرف، به‌عنوان ضایعات دور ریخته می‌شوند. این ضایعات که شامل استخوان‌ها، پوسته، روده، باله، سر، دم و پوست است، عمدتاً به‌عنوان ماده اولیه برای تولید روغن ماهی و پودر ماهی استفاده می‌شود (Maschmeyer et al., 2020). اهمیت فضولات ماهی به‌دلیل محتوای بالای پروتئین‌ها، اسیدهای آمینه‌های، گلوتامین، گلیسین-بتائین و غیره، پپتیدها، کلاژن، و مواد معدنی مانند نیتروژن، فسفر، پتاسیم و سایر درشت مغذی‌ها و آنزیم‌هایی مانند پروتئازها و غیره است (Mahdavi et al, 2024). ازآنجایی‌که اثرات مثبت کاربرد هم‌زمان نانوذره و کود مایع ضایعات ماهی در رشد گیاه و کاهش اثرات تنش‌های محیطی در گیاهان بررسی نشده است. ازاین‌رو این آزمایش اثرات هم‌زمان نانوذره (پرولین) و کود مایع ضایعات ماهی را بر خصوصیات ریخت‌شناختی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه استویا در شرایط تنش شوری بررسی کرده است.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی و به‌صورت فاکتوریل و در چهار تکرار در گلخانه دانشگاه محقق اردبیلی طی سال ۱۴۰۱ به‌صورت کشت هیدروپونیک انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل تنش شوری در چهار سطح (صفر، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ میلی‌مولار سدیم کلرید) و عامل دوم محلول‌پاشی تعدیل‌کننده‌های شوری در پنج سطح (شاهد، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذره پرولین بدون کود مایع ضایعات ماهی، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذره پرولین به همراه کود مایع ضایعات ماهی ۱۵ درصد) بود. برای تهیه محلول نانوذره پرولین از روش هیدروترمال استفاده گردید که برای این کار حدود دو گرم اسید سیتریک با ۰/۵ گرم پرولین توسط ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر در بشر شیشه‌ای (۲۵ میلی‌لیتر) مخلوط گشت. سپس محلول در دمای ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲ ساعت داخل اتوکلاو با پوشش

تفلون گرم شد. بعد از رسیدن دمای محلول به دمای اتاق، مقدار اسیدیته محلول به‌وسیله سدیم هیدروکسید روی عدد هفت تنظیم گردید (Gohari et al., 2021). تصاویر TEM از نانو ذرات پرولین در شکل ۱ آورده شده است.

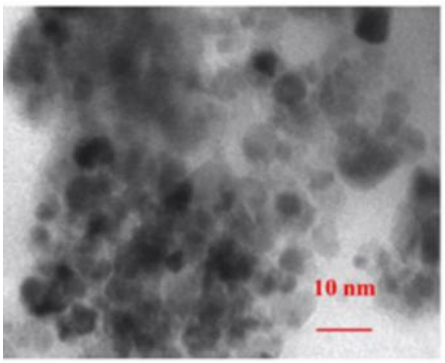
ضایعات ماهی شامل سر، دم و باله گونه ماهی آزاد (*Hypophthalmichthys molitrix*) ابتدا در سایه خشک شد و بعد از آسیاب شدن، پودر حاصل به نسبت ۵:۱ با آب مقطر مخلوط گردید و حدود ۳۵ میلی‌لیتر باکتری هیدرولیزکننده پروتئین (*Bacillus licheniformis*) و حدود ۱۵۰ گرم گلوکز برای هر لیتر اضافه شد و مخلوط حاصل به مدت دو هفته در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید (Whiting et al., 2005). برای جداسازی فاز مایع از جامد از فیلترهای غشایی (Filtration-Micro MF) استفاده شد. میزان عناصر موجود کود مایع ضایعات ماهی (جدول ۱) و میزان اسیدهای آمینه کل و اسید آمینه آزاد در جدول ۲ ارائه شده است.

صفات ارتفاع بوته، تعداد برگ، وزن تر و خشک ریشه و طول ریشه به‌عنوان صفات ریخت‌شناختی ثبت گردید. برای به‌دست آوردن ماده خشک ریشه، ریشه تر گیاه در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت سه روز در دستگاه آون قرار داده شد. برای اندازه‌گیری تغییر رنگ برگ‌های گیاه (شاخص رنگیزه a*, b*) از دستگاه رنگ‌سنج (Minolta مدل CR-400) استفاده گردید. شاخص هدایت روزنه‌ای در ساعت ۹ تا ۱۱ صبح با استفاده از دستگاه پرومتر و میانگین آن از حدود شش برگ بالغ از هر گلدان به دست آمد. برای اندازه‌گیری محتوای نسبی آب (Ritchie et al., 1990)، ۱۰ عدد دیسک برگ (قطر ۱۰ میلی‌متر) از هر گیاه به‌صورت تصادفی انتخاب شد و وزن تر (FW) آن ثبت گردید. برای اندازه‌گیری وزن تورژسانس (TW) برگ‌ها، به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر قرار داده شدند. نمونه‌ها در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک شدند تا وزن خشک آن‌ها (DW) به دست آید. مقدار محتوای نسبی آب از طریق معادله ۱ محاسبه شد.

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

برای اندازه‌گیری میزان پراکسید هیدروژن، ابتدا وزن تر گیاه (۰/۱ گرم) در دو میلی‌لیتر تری کلرواستیک‌اسید (۰/۱ درصد) همگن گردید. سپس حدود ۵۰۰ میکرولیتر بافر فسفات (۱۰۰ میلی‌مولار با اسیدیته ۷) و دو میلی‌لیتر پتاسیم یدید (یک میلی‌مولار) و ۵۰۰ میکرولیتر عصاره گیاهی در فالکون ریخته شد. مقدار جذب محلول در طول موج ۶۲۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر مدل Hitachi (U-2910) قرائت گردید. در نهایت، از منحنی استاندارد پراکسید هیدروژن برای تعیین مقدار واقعی پراکسید هیدروژن استفاده شد (Sergiev et al., 1997). برای تعیین مقدار مالون دی‌آلدئید در اندام‌هوایی گیاه استویا به‌عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی، بافت تازه برگ (۰/۱ گرم) در دو میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک‌اسید ۰/۱ درصد همگن گردید. مخلوط واکنش شامل ۵۰۰ میکرولیتر عصاره گیاه استویا به همراه یک میلی‌لیتر تیوباربیوتیک اسید ۰/۵ درصد حاوی تری‌کلرواستیک اسید ۲۰ درصد بود. میزان جذب در ۵۳۲ نانومتر و ۶۰۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر مدل Hitachi (U-2910) قرائت شد (Heath & Packer, 1968). برای اندازه‌گیری نشت الکترولیت غشاء از روش ردمان و همکاران (Redman et al., 1986) استفاده شد. براساس این روش، نشت الکترولیت غشاء با استفاده از یک هدایت‌سنج الکتریکی (Hanna, HI98192, Hanna Instruments, Inc., Woonsocket, RI, USA) تعیین گردید. پس از جمع‌آوری ۱۵ دیسک (قطر ۰/۵ سانتی‌متر) به‌طور تصادفی از برگ‌ها و انکوباسیون با ۱۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه در دمای محیط (۲۴ ساعت)، هدایت الکتریکی اولیه (EC1) ثبت شد. رسانایی نهایی (EC2) پس از قرار دادن نمونه‌ها در اتوکلاو (۲۰ دقیقه) و سرد شدن اندازه‌گیری گردید. در نهایت، EL به‌وسیله معادله ۲ محاسبه شد.

$$EL\ (\%) = (EC1/EC2) \times 100 \quad (۲)$$



شکل ۱- تصاویر TEM از نانو ذرات پرولین

Figure 1- TEM images of proline nanoparticles

جدول ۱- ترکیب عناصر غذایی کود مایع ضایعات ماهی

Table 1- The composition of major nutrients of fish waste bio-fertilizer

نمونه Sample	کلسیم اکسید CaO (%)	دی‌فسفر پنتاکسید P_2O_5 (%)	پتاسیم اکسید K_2O (%)	سدیم Na (%)	کربن آلی Organic C (%)
	1.801	9.164	7.58	6.02	12

جدول ۲- ترکیب اسیدهای آمینه در کود مایع ضایعات ماهی

Table 2- Amino acid composition of fish waste liquid fertilizer

اسید آمینه Amino acid	اسید آمینه آزاد Free amino acid (mg AA.g^{-1} sample)	اسیدآمینه کل Total amino acid (mg AA.g^{-1} sample)
اسید آسپارتیک Aspartic acid	0.7	1.36
اسید گلوتامیک Glutamic acid	1.49	3.57
سرین Serine	0.17	0.87
گلیسین Glycine	1.08	3.42
هیستیدین Histidine	0.15	0.48
آسپارژین Arginine	0.33	1.02
ترئونین Threonine	0.14	0.84
آلانین Alanine	1.39	2.77
پرولین Proline	0.61	1.86
تیروزین Tyrosine	0.48	0.48
والین Valine	0.72	1.63
متیونین Methionine	0.26	0.51
سیستئین Cysteine	0.00	0.00
ایزولوسین Isoleucine	0.47	0.94
لوسین Leucine	0.98	1.7
فنیل الانین Phenylalanine	0.41	0.83
لیزین Lysine	0.28	0.92

برای اندازه‌گیری محتوای پرولین، مقدار ۰/۱ گرم بافت برگ تازه در دو میلی‌لیتر سولفوسالیسیلیک اسید سه درصد همگن شدند. مخلوط واکنش شامل یک میلی‌لیتر عصاره گیاهی، یک میلی‌لیتر اسید نین هیدرین، یک میلی‌لیتر اسید استیک گلایسیال بود. حدود سه میلی‌لیتر تولوئن برای جداسازی دو فاز استفاده شد. جذب با استفاده از اسپکتروفتومترمدل Hitachi (U-2910) در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت شد. سپس مقدار پرولین با استفاده از نمودار استاندارد تعیین گردید (Bates et al., 1973). برای اندازه‌گیری محتوای فنول کل تقریباً ۰/۱ گرم از وزن تازه اندام‌هوایی گیاهی در دو میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد همگن گردید. سپس به ۵۰۰ میکرولیتر عصاره گیاهی، ۵۰۰

میکرولیتر اتانول (۹۶ درصد) اضافه گردید و با آب مقطر به حجم ۲/۵ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس به این مخلوط، معرف فولین ۱۰ درصد و سدیم کربنات پنج درصد اضافه گردید و بعد از یک ساعت تاریکی در دمای اتاق، جذب در طول موج ۷۲۵ نانومتر قرائت شد. نتایج به‌صورت میلی‌گرم معادل اسیدگالیک درهر گرم وزن تازه بیان گردید (Xu et al., 2010). مقدار کربوهیدرات‌های محلول با استفاده از معرف آنترون به‌روش توصیف‌شده توسط اوموکولو و همکاران (Omokolo et al., 1992) اندازه‌گیری شد. برای این منظور، ۰/۱ گرم از بافت تازه برگ با پنج میلی‌لیتر اتانول (۸۰ درصد) همگن گردید و در آب جوش (۱۰ دقیقه) قرار گرفت و پس از جداسازی فاز مایع از جامد، فاز جامد با پنج میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد مخلوط گشت و در آب جوش (۱۰ دقیقه) قرار گرفت. سپس عصاره‌ها جمع‌آوری شده و تا رسیدن حجم عصاره به یک پنجم مقدار اولیه در دمای ۷۰ درجه قرار داده شدند. پس از سانتریفیوژ، سه میلی‌لیتر معرف آنترون به عصاره تهیه‌شده اضافه گردید و جذب در ۶۲۰ نانومتر ثبت شد. در نهایت، غلظت گلوکز با استفاده از منحنی استاندارد تعیین گردید. برای اندازه‌گیری عناصر غذایی، ابتدا نمونه‌های ریشه گیاهی بعد از شست‌وشو با آب دیونیزه در دمای ۶۰ درجه داخل آون خشک شده و سپس توسط آسیاب پودر شده و در آون با دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت چهار ساعت خاکستر شدند. به دنبال آن، توسط اسید هیدروکلریک دو نرمال هضم گردید و به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. غلظت سدیم و پتاسیم با استفاده از فلیم فتومتر اندازه‌گیری گردید. غلظت کلسیم به‌وسیله ابزار جذب اتمی اندازه‌گیری شد (Chapman & Pratt, 1961). داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 تجزیه تحلیل شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن با سطح اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس حاصل از تأثیر تیمارهای تنش شوری و محلول‌پاشی کود مایع ضایعات ماهی به همراه نانوذره پرولین نشان داد که تأثیر تنش شوری بر صفات ارتفاع بوته، وزن تر ریشه، وزن خشک ریشه، طول ریشه، محتوای نسبی آب برگ، نشت الکترولیت غشاء، هدایت روزنه‌ای، رنگیزه a ,b در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار ($p\leq$ ۰/۰۱) بود. تأثیر محلول‌پاشی کود مایع ضایعات ماهی به همراه نانوذره پرولین بر صفات ارتفاع بوته، وزن تر ریشه، وزن خشک ریشه، طول ریشه، محتوای نسبی آب برگ، نشت الکترولیت غشاء، هدایت روزنه‌ای، رنگیزه a و b، در سطح احتمال یک درصد ($p\leq$ ۰/۰۱) معنی‌دار بود. اثر متقابل تنش شوری و محلول‌پاشی کود مایع ضایعات و نانوذره پرولین ماهی برای هیچ‌کدام از صفات اندازه‌گیری‌شده به‌جز وزن خشک ریشه، نشت الکترولیت غشاء، رنگیزه a و b در سطح احتمال یک درصد ($p\leq$ ۰/۰۱) تأثیر معنی‌داری نداشت (جدول ۳).

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر کاربرد تعدیل‌کننده‌های تنش بر خصوصیات ریخت‌شناختی و فیزیولوژیکی استویا تحت تنش شوری

Table 3- ANOVA for the effect of stress modulator application on morphophysiology and physiological characteristics of stevia under salinity stress conditions

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean of squares			
		طول ریشه Root length (cm)	وزن خشک ریشه Root dry weigth (g)	وزن تر ریشه Root fresh weigth (g)	ارتفاع بوته Shoot length (cm)
تنش شوری Salinity stress	3	606.3 **	153.54 **	2868.15 **	3265.9 **
تعدیل‌کننده تنش Stress modulator	4	20.48 **	12.68 **	68.4 **	211.9 **
تعدیل‌کننده تنش × تنش شوری Salinity stress × stress modulator	12	0.14 ns	0.71 **	2.97 ns	0.2 ns
خطا Error	6	0.51	0.26	7.72	27.23
ضریب تغییرات CV (%)		5.67	8.58	7.16	8.87

ns، * و **: به‌ترتیب غیرمعنی‌دار، و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.

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

ادامه جدول ۳- تجزیه واریانس اثر کاربرد تعدیل‌کننده‌های تنش برخصوصیات ریخت‌شناختی و فیزیولوژیکی گیاه استویا تحت تنش شوری

Continued Table 3- ANOVA for the effect of stress modulator application on morphophysiology and physiological characteristics of stevia under salinity stress conditions

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean of squares				
		محتوای نسبی آب Relative water content (%)	نشت الکترولیت غشاء Membrane electrolyte leakage(%)	هدایت روزنه‌ای Stomatal conductance	رنگیزه a Pigment a	رنگیزه b Pigment b
تنش شوری Salinity stress	3	0.47 **	8039.2 **	84.3 **	109.84 **	281.05 **
تعدیل‌کننده تنش Stress modulator	4	0.07 **	433.47 **	16.37 **	8.28 **	10.29 **
تعدیل‌کننده تنش × تنش شوری Salinity stress × stress modulator	12	0.0005 ns	118.23 **	0.4 ns	0.58 **	0.68 **
خطا Error	6	0.0015	32.48	0.34	0.22	0.2
ضریب تغییرات CV (%)		6.43	14.32	7.4	5.03	3.017

ns، * و **: به‌ترتیب غیرمعنی‌دار، و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.

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

ویژگی‌های ریخت‌شناختی

براساس جدول مقایسه میانگین اثرات اصلی، با افزایش شوری از صفر به ۹۰ میلی‌مولار، ارتفاع بوته ۳۹ درصد (بیشترین ۷۴/۱ سانتی‌متر و کم‌ترین مقدار ۴۴/۹ سانتی‌متر) کاهش یافت. غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذره پرولین به همراه کود مایع ضایعات ماهی باعث افزایش ۱۳/۹۴ درصد و محلول‌پاشی نانوذره پرولین به‌تنهایی موجب افزایش ۷/۱۵ درصد ارتفاع بوته نسبت عدم کاربرد تعدیل‌کننده تنش شوری گردید (جدول ۴). طبق نتایج جدول مقایسه میانگین اثرات اصلی، وزن تر ریشه در گیاهان تیمارشده با ۹۰ میلی‌مولار شوری حدود ۵۰/۲۴ درصد نسبت به گیاهان بدون تنش شوری کاهش یافت. بالاترین میزان وزن تر ریشه در تیمار بدون شوری (۵۲/۵ گرم) و پایین‌ترین مقدار نیز در تیمار ۹۰ میلی‌مولار شوری (۱۲/ ۲۶ گرم) به دست آمد. محلول‌پاشی تعدیل‌کننده تنش شوری به‌ترتیب ۱۳/۵۵ درصد در محلول‌پاشی با نانوذره پرولین به همراه کود مایع ضایعات ماهی و ۵/۶ درصد نانوذره پرولین به‌تنهایی باعث افزایش میزان وزن تر ریشه شد (جدول ۴). بیشترین طول ریشه (۱۸/۴۶ سانتی‌متر) در گیاهان پرورش‌یافته در شرایط بدون تنش شوری حاصل شد و کم‌ترین (۵/۷۳ سانتی‌متر) طول ریشه نیز در گیاهان با تنش شوری ۹۰ میلی‌مولار به دست آمد. بهترین نتیجه در مورد طول ریشه (۱۴/۰۸ سانتی‌متر) در تیمار ۲۰ میلی‌گرم نانوذره پرولین به همراه کود مایع ضایعات ماهی و کم‌ترین مقدار آن (۱۱/۲۳ سانتی‌متر) در تیمار بدون کاربرد تعدیل‌کننده به دست آمد (جدول ۴). محتوای نسبی آب برگ گیاهان رشدیافته در تیمار ۹۰ میلی‌مولار شوری در مقایسه با گیاهان شاهد ۴۶/۱۵ درصد کاهش یافت. در حالت کلی، کاربرد ۲۰ میلی‌گرم نانوذره پرولین به همراه کود مایع ضایعات ماهی و غلظت ۲۰ میلی‌گرم نانوذره پرولین به‌تنهایی باعث افزایش ۲۳/۵۲ و ۱۳/۳۳ درصد نسبت به عدم کاربرد تعدیل‌کننده شوری شد (جدول ۴). آنالیز داده‌های این آزمایش برای هدایت روزنه‌ای نشان داد که هدایت روزنه‌ای گیاهان رشدیافته در تیمار ۹۰ میلی‌مولار شوری در مقایسه با گیاهان شاهد ۴۵/۶۸ درصد (بالاترین ۱۰/۲ و کم‌ترین ۵/۵۴ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه) کاهش یافت. بهترین نتیجه در مورد هدایت روزنه‌ای (۹/۴میکرومول بر مترمربع بر ثانیه) در تیمار ۲۰ میلی‌گرم نانوذره پرولین به همراه کود مایع ضایعات ماهی و کم‌ترین آن (۶/۸ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه) در تیمار بدون کاربرد تعدیل‌کننده به دست آمد (جدول ۴). براساس نتایج همین جدول، تنش ۹۰ میلی‌مولار شوری باعث کاهش ۷۰/۹۳ درصد وزن خشک ریشه نسبت به تیمار بدون شوری شد. کاربرد نانوذره پرولین ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر به همراه کود مایع ضایعات ماهی باعث بهبود وزن خشک ریشه (به‌ترتیب ۲۷/۶۹ و ۴۲/۰۱ درصد) به‌ترتیب در تنش شوری ۶۰ و ۹۰ میلی‌مولار گردید و کاربرد نانوذره پرولین به‌تنهایی منجر به افزایش وزن خشک ریشه (به‌ترتیب ۸/۴۸ و ۲۰ درصد) به‌ترتیب در تنش شوری ۶۰ و ۹۰ میلی‌مولار شد (جدول ۵) تنش شوری باعث کاهش و رنگیزه‌های کلروفیل و در نتیجه آن کاهش فتوسنتز می‌شود. همچنین تنش شوری موجب کاهش محتوای نسبی آب برگ، جذب یون‌های معدنی ضروری مثل نیتروژن و پتاسیم و کلسیم و به‌طور همزمان تجمع سدیم شده و تمامی این

مسائل منجر به کاهش رشد می‌شود. از طرفی، شوری با کاهش سرعت فتوسنتز با به تأخیر انداختن روند گل‌دهی، کاهش باروری بعد از تلقیح و کاهش عملکرد، بر رشد رویشی و زایشی گیاهان تأثیر منفی دارد (Ahanger et al., 2019). تنش شوری موجب القای تنش اسمزی و تنش یونی در گیاهان می‌گردد. تنش اسمزی در نتیجه افزایش یون‌های سدیم در محلول خاک ایجاد می‌شود که منجر به کاهش جذب آب در منطقه ریزوسفر ریشه و در نهایت کاهش محتوای نسبی آب برگ می‌شود. این فرآیندهای مختلف، گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Awlia et al., 2021) تنش شوری با تأثیر بر دسترس بودن، جذب و حمل‌ونقل یون‌های مختلف در ایجاد اختلال در تقسیم سلولی نقش دارد و باعث کاهش رشد در شمار بسیاری از گیاهان از جمله فلفل (*Capsicum annuum*)، بادمجان (*Solanum melongena*)، گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum*) شده است (Balasubramaniam et al., 2023). پرولین، مولکولی با وزن کم است، و در تنش زیستی و غیرزیستی در سیتوپلاسم سلولی تجمع می‌یابد، تجمع این مولکول موجب حفظ اسیدیته سیتوزول شده و رشد سلولی را تنظیم می‌کند. پرولین با افزایش فشار اسمزی موجب باز شدن سلول‌های روزنه‌ای و افزایش ورود دی‌اکسیدکربن و بالا رفتن میزان فتوسنتز، و در نهایت سطح برگ و هدایت روزنه‌ای می‌گردد. پرولین با تولید آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی مختلف باعث حذف رادیکال‌های اکسیژن فعال و حفظ ساختار پروتئین‌ها و آنزیم‌ها می‌شود. همچنین آنتی‌اکسیدان‌ها موجب یکپارچگی اجزای غشاهای بیولوژیکی نظیر لیپیدها، پروتئین، غشای پلاسما می‌شود. همین پایداری موجب افزایش رشد ریشه، افزایش جذب مواد غذایی و در نتیجه افزایش رشد اندام‌هوایی گیاه در شرایط تنش شوری می‌گردد (Awlia et al., 2021). کاربرد پرولین خارجی به‌صورت محلول‌پاشی اندام هوایی در شرایط تنش شوری، علاوه‌بر وزن خشک برگ‌ها و ریشه‌ها، محتوای پروتئین را در گیاهان ذرت افزایش داد (de Freitas et al., 2019). شرایط تنش در گیاهان ذرت (*Zea mays* L) محتوای نیتروژن، فسفر، پتاسیم، کلسیم و منیزیم در قسمت اندام هوایی و ریشه را کاهش داده است (Ali et al., 2008). در این مطالعه، کاربرد نانوذره پرولین موجب افزایش پرولین درون‌زا شده و بنابراین جذب تمام درشت‌مغذی‌ها را در شرایط تنش آبی افزایش داد. از طرفی، ضایعات ماهی تخمیرشده موجب رها شدن اسید فولویک و اسید هیومیک می‌شود که با تجزیه این مواد اکسین آزاد می‌گردد، ایجاد اکسین به همراه افزایش فسفر و پتاسیم و سایر عناصر غذایی ضروری باعث طویل شدن ریشه در گیاهان و در نتیجه افزایش دوباره جذب عناصر غذایی و معدنی و افزایش رشد گیاه می‌شود (Balraj et al., 2014). تحقیقات نشان داده است که کود مایع ضایعات ماهی باعث طویل شدن ریشه و بهبود رشد در گیاه پیاز (*Allium cepa*) (Metwally et al., 2021) و *Prunus persica* L. (Baldi & Tosel Li, 2013) شده است.

جدو ل ۴- اثرات اصلی کود مایع ضایعات ماهی به همراه محلول‌پاشی نانوذره پرولین بر خصوصیات ریخت‌شناختی استویا تحت تنش شوری

Table 4- Effect of various concentrations of proline nanoparticles and fish waste fertilizer on morphophysiology characteristics of Stevia under salinity stress conditions

تیمارها Treatment		ارتفاع بوته Shoot length (cm)	وزن تر ریشه Root fresh weigth (g)	طول ریشه Root dry weigth(g)	محتوای نسبی آب Relative water content (%)	هدایت‌روزنه‌ای Stomatal conductance ($\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$)
تنش شوری Salinity stress (mM)	0	74.1 a	52.5 a	18.46 a	0.78 a	10.2 a
	30	63.65 b	44.64 b	15.3 b	0.67 b	9 b
	60	52.55 c	31.9 c	11.15 c	0.54 c	7.14 c
	90	44.9 d	26.12 d	5.73 d	0.42 d	5.54 d
عدم استفاده Non-use	0	54.45 d	36.22 c	11.23 d	0.52 e	6.8 e
پرولین Proline	10	56.18 cd	38.16 cb	11.86 c	0.56 d	7.34 d
	20	58.62 bc	38.37 b	12.84 b	0.6 c	7.91 c
پرولین+ کود ماهی (۱۵٪) Proline + fish fertilizer (15%)	10	61.5 ab	39.31 b	13.28 b	0.64 b	8.35 b
	20	63.25 a	41.9 a	14.08 a	0.68 a	9.4 a

* حروف مشترک در هر ستون نشانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد به‌روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشد.

* Same letters indicate no significant differences ($p < 0.05$) based on Duncan's Multiple Range test.

جدول ۵- اثرات متقابل کود مایع ضایعات ماهی به همراه محلول‌پاشی نانوذره پرولین بر صفات ریخت‌شناختی و فیزیولوژیکی استویا تحت تنش شوری

Table 5- The interaction effect of proline nanoparticles and fish waste fertilizer on morphophysiology and physiological characteristics of Stevia under salinity stress conditions

تنش شوری Salinity stress (mM)	تیمار Treatment	پرولین Proline ($mg.L^{-1}$)	وزن خشک ریشه Root dry weigth (g)	نشت الکترولیت غشاء Membrane electrolyte leakage(%)	رنگیزه a Pigment a	رنگیزه b Pigment b
0	عدم استفاده Non-use	0	8.12 d	29.07 fgh	-11.71 k	11/85 j
	پرولین Proline	10	8.87 c	27.57 fgh	-12.21 k	11.45 j
		20	9.27 bc	25.81 gh	-12.25 k	10.7 k
	پرولین+ کود ماهی (۱۵٪) Proline + fish fertilizer (15%)	10	9.77 b	26.3 gh	-12.4 k	9/78 l
		20	11.9 a	24.29 h	-13.09 l	9.21 l
30	عدم استفاده Non-use	0	5.35 gf	42.89 de	-9.27 gh	14.5 gh
	پرولین Proline	10	5.8 f	40.89 e	-9.77 hi	14.39 gh
		20	6.58 e	38.09 ef	-9.84 hi	14.07 h
	پرولین+ کود ماهی (۱۵٪) Proline + fish fertilizer (15%)	10	6.96 e	37.34 ef	-10.09 i	13/84 h
		20	7.8 d	35.8 efg	-10.86 j	13/19 i
60	عدم استفاده Non-use	0	4.1 hi	60.75 bc	-7.86 de	17/48 d
	پرولین Proline	10	4.6 ghi	57.003 c	-8.36 ef	17/17 de
		20	4.48 hi	55.78 c	-8.65 fg	16.67 e
	پرولین+ کود ماهی (۱۵٪) Proline + fish fertilizer (15%)	10	4.88 gh	54.03 c	-8.55 ef	15.8 f
		20	5.67 f	51.9 cd	-9.53 hi	14.97 g
90	عدم استفاده Non-use	0	2.36 k	88.22 a	-5.16 a	20/63 a
	پرولین Proline	10	2.86 kj	84.97 a	-5.91 b	19/58 b
		20	2.95 kj	68.58 b	-7.07 c	18.83 c
	پرولین+ کود ماهی (۱۵٪) Proline + fish fertilizer (15%)	10	3.23 j	61.08 bc	-7.42 cd	19.36 bc
		20	4.07 i	60.25 bc	-8.31 ef	18.86 c

* حروف مشترک در هر ستون نشانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد به‌روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشد.

* Same letters indicate no significant differences ($p < 0.05$) based on Duncan's Multiple Range test.

رنگیزه a* و b*

تنش ۹۰ میلی‌مولار شوری باعث افزایش ۵۵/۹۳ درصد رنگیزه a نسبت به تیمار بدون شوری شد. بیشترین مقدار رنگیزه a (۵/۱۶-) در تیمار ۹۰ میلی‌مولار و بدون کاربرد تعدیل‌کننده شوری به دست آمد که تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها در این سطح شوری داشت. به‌طوری که با افزایش غلظت نانوذره پرولین در شرایط با و بدون کاربرد کود مایع ضایعات ماهی، میزان این رنگیزه کاهش یافت. کم‌ترین میزان رنگیزه a (۱۳/۰۹-) در تیمار بدون تنش شوری و کاربرد غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره پرولین به همراه کاربرد کود مایع ضایعات ماهی به دست آمد که با سایر تیمار در این سطح شوری تفاوت معنی‌داری داشت (جدول ۵). براساس جدول مقایسه میانگین، تنش ۹۰ میلی‌مولار شوری باعث افزایش ۵۱/۱۶ درصد رنگیزه b نسبت به تیمار بدون شوری شد. کم‌ترین مقدار رنگیزه b (۹/۲۱) در تیمار بدون شوری و کاربرد غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره پرولین به همراه کاربرد کود مایع ضایعات ماهی بود. بیشترین مقدار (۲۰/۶۳) نیز در تیمار ۹۰ میلی‌مولار و بدون تعدیل‌کننده شوری به دست آمد (جدول ۵). رنگیزه a* + رنگ قرمز و a*- سبز، b* + رنگ زرد و b* - آبی هستند. تنش شوری با افزایش اکسیژن فعال باعث کاهش کلروفیل (رنگ سبز) و افزایش رنگدانه‌های آنتوسیانین‌ها، کاروتنوئیدها، بتاسیانین، بتازانتین و بتالین می‌شود که باعث رنگ قرمز و زرد می‌شود (Nazmul Hossain et al., 2022). این نتایج شبیه یافته‌های محققان است (Nazmul Hossain et al., 2022; Sarker & Oba, 2019). استفاده از نانوذرات پرولین منجر به کاهش اکسیژن فعال شده و با اثر اسمزی خود باعث افزایش جذب مواد مغذی نظیر منیزیم (عنصر مرکزی کلروفیل)، نیتروژن و پتاسیم می‌شود. این ماده همچنین با کاهش آنزیم کلروفیلاز از کاهش کلروفیل (رنگ سبز) جلوگیری می‌کند (Merwad et al., 2018). کود مایع ضایعات ماهی به‌دلیل محتوای اسیدهای آمینه به‌ویژه پرولین و جذب مواد مغذی

فسفر، منیزیم و نیتروژن، بیوسنتز کلروفیل (رنگ سبز) را در گیاهان افزایش می‌دهد (Ishak & Sarbon, 2017). این نتایج با یافته‌های شهسوانی و همکاران (Shahsavani et al., 2017) هم‌خوانی دارد.

براساس جدول تجزیه واریانس اثرات اصلی، فنول کل، کربوهیدرات کل، مالون دی‌آلدئید، هیدروژن پراکسید و پرولین در هرکدام از تیمارهای تنش شوری و تعدیل‌کننده تنش شوری (نانوذره پرولین به همراه کود ضایعات ماهی) در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شدند. همچنین براساس این جدول، اثرات متقابل بین پراکسید هیدروژن، کربوهیدارت کل، پرولین، فنول کل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شدند و اثرات متقابل شاخص مالون دی‌آلدئید سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بودند (جدول ۶).

پرولین

مطابق نتایج به‌دست‌آمده، افزایش غلظت شوری باعث افزایش مقدار پرولین گردید. به‌طوری که افزایش شوری از صفر به ۹۰ میلی‌مولار باعث افزایش ۴۴/۳۹ درصد پرولین شد. در تیمار ۹۰ میلی‌مولار تنش شوری، بالاترین میزان پرولین (۶۳/۵۴ میکروگرم بر گرم وزن تر) در تیمار۲۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره پرولین به همراه کود مایع ضایعات ماهی به دست آمد که افزایش ۷۸/۲۳ درصدی نسبت به شاهد داشت. کاربرد ۲۰ میلی‌گرم نانوذره پرولین بدون کود مایع ضایعات ماهی باعث افزایش پرولین (۳۴/۷۶ درصد) نسبت به تیمار بدون تعدیل‌کننده شوری در تنش شوری ۹۰ میلی‌مولار شد (جدول۷). شوری با کاهش آب سلولی باعث کاهش پتانسیل اسمزی سلولی می‌شود و گیاه برای مقابله با کاهش پتانسیل اسمزی، املاح سازگاری که دارای جرم مولکولی پایین هستند را سنتز می‌کنند. املاح سازگار شامل قندهای الکلی، ترکیبات آمونیاک چهارتایی، پرولین و ترکیبات سولفونیوم هستند. تنش شوری موجب بالا رفتن تولید قند و پرولین در گیاه گندم (*Triticum aestivum*) و اسفناج (*Spinacia oleracea*) شده است (Alikhani & Mahmudi Zarandi, 2019; Hu et al., 2016).

نقش مهم و حیاتی نانوذره پرولین، در قالب یک محافظ گیاهی، به‌خوبی در برابر عوامل تنش‌زای محیطی به‌طورکلی و تنش شوری به‌طور اختصاصی، مشخص شده است. این ماده با تنظیم فعالیت اسمزی مواد، حفظ پایداری غشاء، حذف و مهار اکسیژن فعال و افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در تنش اسمزی مرتبط است. یکی از دلایل تحمل بالای گیاهان به تنش‌های مختلف می‌تواند به‌دلیل انباشته شدن پرولین و کاهش آسیب‌های ناشی از تنش اسمزی و یون سدیم کلرید باشد (Zahedi et al., 2023). کاربرد نانوذره پرولین موجب بهبود محتوای پرولین گیاه خار مریم (*Silybum marianum* L) شده است (Safikhan et al., 2018). همچنین کاربرد خارجی نانوذره پرولین منجر به افزایش محتوای پرولین در گیاهانی که تحت تنش شوری قرار گرفته‌اند، شده است (Zhao et al., 2020). کود مایع ضایعات ماهی دارای مقدار بالای اسیدآمینه پرولین است که باعث تعدیل تنش شوری در گیاه می‌شود. همچنین نیتروژن و فسفر موجود در کود مایع ضایعات ماهی موجب افزایش تولید پرولین می‌شوند (Fageria, 2009). وجود مواد آلی و اسیدآمینه در کود مایع ضایعات ماهی باعث بهبود رشد گیاه تربچه (*Raphanus sativus*) شده است (El-Tarabily et al., 2003).

جدول ۶- تجزیه واریانس اثر کاربرد تعدیل‌کننده‌های تنش بر خصوصیات بیوشیمیایی استویا تحت تنش شوری

Table 6- ANOVA for the effect stress modulator application on the physiological characteristics of Stevia under salinity stress conditions

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean of squares				
		پراکسید هیدروژن H_2O_2	فنول Phenol	مالون دی‌آلدئید MDA	پرولین Proline	کربوهیدارت کل Total carbohydrates
تنش شوری Salinity stress	3	0.0044 **	12236.43 **	1.09 **	143.07 **	114532.12 **
تعدیل‌کننده تنش Stress modulator	4	0.00026 **	5268.87 **	0.05 **	178.56 **	11715.7 **
تعدیل‌کننده تنش × شوری Salinity stress × stress modulator	12	0.00024 **	674.24 **	0.0027 *	310.58 **	10411.99 **
خطا Error	6	0.000052	64.43	0.001	5.05	210.24
ضریب تغییرات CV (%)		6.85	8.22	7.03	10.68	9.1

ns، * و **: به‌ترتیب غیرمعنی‌دار، و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.

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

جدول ۷- اثرات متقابل کود مایع ضایعات ماهی به همراه محلول‌پاشی نانوذره پرولین بر میزان عناصر استویا تحت تنش شوری

Table 7- The interaction effect of proline nanoparticles and fish waste fertilizer on biochemical characteristics of Stevia under salinity stress conditions

تنش شوری Salinity stress (mM)	تیمار Treatment	پرولین Proline ($mg.L^{-1}$)	پرولین Proline ($\mu g.g^{-1}$)	پراکسید هیدروژن H_2O_2 ($\mu mol.g^{-1}$)	فنول Phenol ($mg.g^{-1}$)	مالون دی‌آلدئید MDA ($\mu mol.g^{-1}$)	کربو هیدارت کل Total carbohydrates ($\mu g.g^{-1}$)
0	عدم استفاده Non-use	0	7.69 m	0.016 j	40.57 k	0.28 jk	36.98 l
	پرولین Proline	10	9.94 ml	0.015 j	43.57 k	0.25 kl	44.48 l
		20	12.7 jkl	0.015 j	49.85 jk	0.22 l	101.74 jl
	پرولین+ کود ماهی (۱۵٪) Proline + fish fertilizer (15%)	10	13.95 ijk	0.014 j	55.6 ij	0.21 l	117.24 hi
		20	16.42 ghi	0.015 j	61.44 hi	0.2 l	162.8 f
30	عدم استفاده Non-use	0	13.92 i	0.034 fg	62.15 hi	0.48 g	74.37 k
	پرولین Proline	10	17.35 ghi	0.032 g	66.9 gh	0.41 h	81.12 kj
		20	20.308 fgh	0.028 h	73.65 fg	0.35 i	122.67 hi
	پرولین+ کود ماهی (۱۵٪) Proline + fish fertilizer (15%)	10	20.29 fgh	0.025 hi	78.9 ef	0.32 ji	122.67 hi
		20	21.08 efg	0.016 j	91.25 d	0.31 ji	162.41 f
60	عدم استفاده Non-use	0	10.67 kml	0.044 d	69.96 fgh	0.62 e	72.63 k
	پرولین Proline	10	13.92 jk	0.039 e	74.96 fg	0.61 e	81.63 kj
		20	15.1 hi	0.036 ef	86.59 de	0.59 ef	161.29 f
	پرولین+ کود ماهی (۱۵٪) Proline + fish fertilizer (15%)	10	17.35 fghi	0.034 gf	90.34 d	0.55 f	193.79 e
		20	20.3 def	0.033 g	112.11 c	0.45 gh	357.29 b
90	عدم استفاده Non-use	0	13.83 ijk	0.06 a	70.81 fgh	0.86 a	130.6 gh
	پرولین Proline	10	18.83 defg	0.055 b	75.81 gf	0.8 b	150.6 gf
		20	21.2 de	0.049 c	112.88 c	0.77 bc	250.6 d
	پرولین+ کود ماهی (۱۵٪) Proline + fish fertilizer (15%)	10	24.49 de	0.046 d	130.38 b	073 cd	285.6 c
		20	63.54 a	0.044 d	157.79 a	0.7 d	483.45 a

* حروف مشترک در هر ستون نشانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد به‌روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشد.

* Same letters indicate no significant differences ($p < 0.05$) based on Duncan's Multiple Range test.

کربوهیدرات کل

مطابق نتایج به‌دست‌آمده، افزایش شوری از صفر به ۹۰ میلی‌مولار باعث افزایش ۷۱/۶۸ درصدی کربوهیدرات کل شد. در تیمار ۹۰ میلی‌مولار تنش شوری، بالاترین میزان کربوهیدرات کل (۴۸۳/۴۵ میکروگرم برگرم وزن تر) در تیمار۲۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره پرولین به همراه کود مایع ضایعات ماهی به دست آمد که افزایش ۷۲/۹۸ درصدی نسبت به تیمار بدون تعدیل‌کننده شوری داشت. کاربرد ۲۰ میلی‌گرم نانوذره پرولین بدون کود مایع ضایعات ماهی باعث افزایش کربوهیدرات کل (۴۷/۸۸ درصد) نسبت به تیمار بدون تعدیل‌کننده شوری در تنش شوری ۹۰ میلی‌مولار شد (جدول ۷). تنش شوری باعث افزایش یون کلرید در بافت‌های گیاهی می‌گردد. یون کلرید با تخریب نشاسته در گیاهان منجر به افزایش سطح کربوهیدرات در بافت‌های گیاهی می‌شود. افزایش محتویات کربوهیدرات به‌دلیل میزان بالای هیدرولیز قند از طریق آنزیم‌های هیدرولیتیک است. کربوهیدرات‌ها با برقراری پیوند با فسفولیپیدها، غشای پلاسمایی گیاهان را تثبیت می‌کنند (Maathuis et al., 2014). وجود نقش کربوهیدرات‌ها در تنظیم اسمزی گیاهان تأیید شده است (Ikram et al., 2019). کاربرد خارجی پرولین موجب افزایش کربوهیدرات کل در گیاهان *Brassica napus*، تنباکوی تراریخته (*Nicotiana plumbaginifolia*) و *A thaliana* در تنش خشکی شده است (Moustakas et al., 2011). کود مایع ضایعات ماهی غنی از پتاسیم است و این پتاسیم باعث ایجاد نسبت بالای پتاسیم به سدیم شده و در نتیجه آن روزنه‌ها باز می‌گردد، باز شدن روزنه‌ها باعث افزایش نفوذپذیری دی‌اکسیدکربن و فعالیت بیشتر کلروفیل و در نتیجه افزایش میزان فتوسنتز و افزایش میزان تولید کربوهیدرات در گیاه می‌شود (Shams et al., 2020). کود مایع

ضایعات ماهی باعث ساخت بیشتر کربوهیدرات کل در گیاه اسفناج شده است (Ekinci et al., 2019).

نشت الکترولیت غشا، پراکسید هیدروژن و مالون دی‌آلدئید

براساس جدول مقایسه میانگین (جدول ۷)، تیمار ۹۰ میلی‌مولار شوری باعث افزایش ۷۳/۳۳ درصد این شاخص شد. در تیمار ۹۰ میلی‌مولار تنش شوری بالاترین میزان پراکسید هیدروژن (۰/۰۶ میکرومول بر گرم) در تیمار بدون تعدیل‌کننده شوری به دست آمد. پایین‌ترین میزان پراکسید هیدروژن (۰/۰۴۴ میکرومول برگرم) نیز در ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره پرولین به همراه کود مایع ضایعات ماهی مشاهده شد (جدول ۷). با توجه به جدول مقایسه میانگین، تنش شوری با افزایش میزان مالون دی‌آلدئید باعث افزایش نشت غشای سلولی می‌گردد. افزایش تنش شوری از صفر به ۹۰ میلی‌مولار باعث افزایش ۶۷/۴۴ درصد مالون دی‌آلدئید نسبت به تیمار بدون شوری شد. بیشترین مقدار مالون دی‌آلدئید (۰/۸۶میکرومول بر گرم) در تیمار بدون کاربرد تعدیل‌کننده شوری و تنش شوری ۹۰ میلی‌مولار به دست آمد که نسبت به سایر تیمارها در این سطح شوری تفاوت معنی‌داری داشت. کم‌ترین میزان مالون دی‌آلدئید در این سطح شوری (۰/۷ میکرومول برگرم) در تیمار ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره پرولین همراه با کود مایع ضایعات ماهی حاصل شد (جدول ۷). براساس جدول مقایسه میانگین (جدول ۵)، بیشترین مقدار نشت الکترولیت غشاء (۸۸/۲۲ درصد) در تیمار بدون کاربرد تعدیل‌کننده شوری و تنش شوری ۹۰ میلی‌مولار به دست آمد که تفاوت معنی‌داری نسبت به غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره پرولین بدون کاربرد کود مایع ضایعات ماهی نداشت. کاربرد ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره پرولین به همراه کود مایع ضایعات ماهی و کاربرد ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره پرولین بدون کاربرد کود مایع ضایعات ماهی باعث کاهش نشت الکترولیت غشاء (به‌ترتیب ۳۱/۷ و ۲۲/۲۶ درصد) در تنش شوری ۹۰ میلی‌مولار شد. گیاهان برای حفظ فعالیت فیزیولوژیکی طبیعی به یکپارچگی و پایداری غشاء نیاز دارند. افزایش بیش از حد سدیم با به هم ریختن تعادل اولیه رادیکال‌های آزاد در سلول‌ها باعث پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء می‌شود. و همین امر موجب کاهش سیالیت غشاء و افزایش نفوذپذیری آن می‌گردد. با افزایش نفوذپذیری غشاء، غلظت یون سمی در داخل سلول گیاهی افزایش و مقدار پتاسیم و کلسیم کاهش می‌یابد. در نتیجه، این عدم تعادل منجر به سمیت یونی و تولید اکسیژن فعال می‌شود. تولید اکسیژن فعال در شرایط تنش افزایش می‌یابد، این در حالی است که گیاهان برای عملکرد عادی خود به سطح آستانه اکسیژن فعال نیاز دارد. اکسیژن فعال با اسیدهای چرب غیراشباع وارد واکنش شده، و با تشکیل هیدروپراکسیدهای لیپیدی منجر به کاهش نفوذپذیری غشاء می‌شود. این واکنش منجر به افزایش محتوای پراکسید هیدروژن، نشت الکترولیت و مالون دی‌آلدئید می‌شود و احتمالاً علت اصلی خسارت شدید به غشای سلول گیاهی، تولید رادیکال‌های سوپراکسید، رادیکال‌های هیدروکسیل و پراکسید هیدروژن است که در نتیجه باعث پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع در غشای سلولی می‌شود (Alzahrani et al., 2019). پرولین از جمله محلول‌های سازگار، محافظ اسمزی است و به‌عنوان دفع‌کننده رادیکال هیدروکسیل عمل می‌کند. به نظر می‌رسد که افزایش فعالیت‌های آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز در شرایط تنش شوری ممکن است با کاربرد نانوذره پرولین مرتبط باشد. ازاین‌رو، کاربرد نانوذره پرولین با بهبود و افزایش فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و پراکسیداز، تولید پراکسید هیدروژن را کاهش می‌دهد و در نتیجه آن، آسیب تنش اکسیداتیو در سلول کاهش می‌یابد. علاوه‌بر این، کاربرد نانوذره پرولین موجب کاهش اثرات منفی تنش شوری بر رشد گیاه شده و تبادل گاز را در روزنه‌ها بهبود داده، بیان ژن تولیدکننده پروتئین‌ها را در برابر تنش افزایش داده، پراکسیداسیون لیپید را کاهش داده و در نتیجه فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را بالا می‌برد (Wani et al., 2019). در خصوص کود مایع ضایعات ماهی، پتاسیم موجود در کود باعث حفظ پتانسیل و فشار غشای پلاسمایی سلول گیاهی شده، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را حفظ می‌کند و فشار اسمزی در داخل سلول و حرکت روزنه را تنظیم می‌کند. همچنین این کود با داشتن عنصر غذایی بالا موجب افزایش تولید کلروفیل، بهبود فتوسنتز، سنتز پروتئین و متابولیسم آنتی‌اکسیدان می‌شود (Koksal et al., 2016). گیاهان برای زنده ماندن تحت تنش اسمزی و شوری احتیاج به نسبت بالای کلسیم: سدیم و حذف سدیم دارند. کلسیم موجود در کود باعث افزایش پایداری غشای سلولی گیاه کرفس (*Apium graveolens*) در شرایط تنش شوری شده است. کلسیم با تثبیت نفوذپذیری غشاء، غلظت نیتروژن و پتاسیم در برگ‌ها باعث بهبود رشد گیاه گوجه‌فرنگی شد (Saini et al., 2015).

فنول کل

با توجه به جدول مقایسه میانگین، افزایش تنش شوری به ۹۰ میلی‌مولار باعث افزایش ۴۲/۷ درصد فنول کل نسبت به تیمار بدون شوری شد. بیشترین مقدار فنول کل (۱۵۷/۷۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در تیمار ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره پرولین به همراه کود مایع ضایعات ماهی و تنش شوری ۹۰ میلی‌مولار به دست آمد که نسبت به

سایر تیمارها در این سطح شوری تفاوت معنی‌داری داشت. کم‌ترین میزان فنول کل (۴۰/۵۷ میلی‌گرم برگرم وزن تر) نیز در تیمار بدون تیمار شوری و بدون کاربرد تعدیل‌کننده شوری به دست آمد (جدول ۷). ترکیبات فنولی شامل مونوفنول‌ها، پلی‌فنول‌ها و الیگوفنول‌ها در پاسخ به رادیکال‌های آزاد حاصل از تنش ایجاد می‌شوند و با فعالیت آنتی‌اکسیدانی خود موجب از بین رفتن رادیکال‌های آزاد لیپیدی و موجب تجزیه هیدروژن پراکسید می‌شود (Minh et al., 2016). تنش شوری باعث افزایش ترکیبات فنولی در گیاه فلفل شده است (Ksouri et al., 2007). نمونه‌های دیگر گیاهان نیز افزایش فنول‌ها و فلاونوئیدها یا ترکیبات مشابه آن‌ها را در شرایط تنش شوری نشان داده‌اند (Arif et al., 2020). گزارش شده است که پرولین سازوکارهای دفاعی مانند آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را در پاسخ به تنش شوری فعال می‌کند. پرولین همچنین نقش اساسی در تولید ترکیبات فنولی ناشی از تنش دارد. این ترکیبات فنولی فعالیت آنتی‌اکسیدانی از خود نشان می‌دهند. در تحقیقات بسیاری از محققان ثابت شده است که تولید پرولین، بیوسنتز فنول‌ها را از طریق مسیرهای شیکمات و فنیل پروپانوئید تحریک می‌کند (Shetty, 1997). محلول‌پاشی برگی نانوذره پرولین با تقویت سیستم‌های ازبین‌برنده اکسیژن فعال، تحمل گیاه نخود (*Cicer arietinum*) را در مقابل آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از تنش خشکی افزایش داد. این تحقیقات نشان می‌دهد که نانوذره پرولین با کاهش محتوای هیدروژن پراکسید و با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز، و آسکوربات پراکسیداز، نقش محافظتی در برابر تنش اکسیداتیو ناشی از خشکسالی دارد (Osman, 2015). کود مایع ضایعات ماهی حاوی ترکیباتی است که اساس این ترکیبات برپایه فنول و فلاونوئیدها می‌باشد. همچنین مواد موجود در این کود نظیر پرولین باعث تحریک مسیر تولید ترکیبات فنولی و باعث افزایش این ترکیبات در گیاه می‌گردند (Muscolo et al., 2022).

جدول ۸- تجزیه واریانس اثر کاربرد تعدیل‌کننده‌های تنش بر میزان عناصر استویا تحت تنش شوری

Table 8- ANOVA for the effect of stress modulator application on the essential nutrients of Stevia under salinity stress conditions

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean of squares		
		سدیم ریشه Root Na (%)	پتاسیم ریشه Root K (%)	کلسیم ریشه Root Ca (%)
تنش شوری Salinity stress (mM)	3	16.36 **	0.96 **	9.69 **
تعدیل‌کننده تنش Stress modulator	4	16.97 **	4.81 **	11.54 **
تعدیل‌کننده تنش × شوری Salinity stress × Stress modulator	12	** 2.63	0.38 **	0.34 **
خطا Error	6	0.026	0.015	0.006
ضریب تغییرات CV (%)		3.91	6.19	3.36

ns، * و **: به‌ترتیب غیرمعنی‌دار، و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد می‌باشد

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

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۸) حاصل از تأثیر محلول‌پاشی تعدیل‌کننده‌های تنش شوری (نانوذره پرولین به همراه و بدون کاربرد کود مایع ضایعات ماهی) تحت تنش شوری نشان داد که اثرات اصلی تیمارهای شوری و تعدیل‌کننده‌های شوری و همچنین اثر متقابل آن‌ها بر سدیم ریشه، پتاسیم ریشه، کلسیم ریشه در سطح احتمال یک درصد ($p\leq ۰/۰۱$) معنی‌دار شدند.

سدیم، پتاسیم و کلسیم

براساس جدول مقایسه میانگین، تنش شوری باعث افزایش ۵۴/۴ درصد سدیم ریشه گردید. در تیمار ۹۰ میلی‌مولار شوری، تیمار ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره پرولین بدون کود مایع ضایعات ماهی و تیمار۲۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره پرولین همراه با کود مایع ضایعات ماهی باعث کاهش (به‌ترتیب ۴۶/۲۱ و ۵۶/۶۶ درصد) سدیم ریشه نسبت به تیمار عدم کاربرد تعدیل‌کننده شوری شدند (جدول ۹). براساس جدول مقایسه میانگین (جدول ۹)، تنش شوری باعث کاهش ۵۶/۷۵ درصدی پتاسیم ریشه گردید. در تیمار ۹۰ میلی‌مولار شوری، تیمار ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره پرولین بدون کود مایع ضایعات ماهی باعث افزایش (۶۵/۰۶ درصد) پتاسیم ریشه و تیمار ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره پرولین همراه با کود مایع ضایعات ماهی باعث افزایش

(۷۱/۴۲ درصد) پتاسیم ریشه نسبت به تیمار عدم کاربرد تعدیل‌کننده شوری شدند. نتایج حاصل از آزمایش‌ها نشان داد که با افزایش غلظت شوری درگلدان‌ها، میزان جذب کلسیم ریشه گیاه استویا به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. به‌طوری که براساس جدول مقایسه میانگین، تنش شوری باعث کاهش ۶۳/۳۲ درصدی کلسیم ریشه گردید. در تیمار ۹۰ میلی‌مولار شوری، تیمار ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره پرولین بدون کود مایع ضایعات ماهی باعث افزایش (۳۰/۱۴ درصد) کلسیم ریشه و تیمار۲۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره پرولین همراه با کود مایع ضایعات ماهی باعث افزایش (۶۲/۴۵ درصد) کلسیم ریشه نسبت به تیمار عدم کاربرد تعدیل‌کننده شوری شدند (جدول ۹).

جدول ۹- اثرات متقابل کود مایع ضایعات ماهی به همراه محلول‌پاشی نانوذره پرولین بر میزان عناصر استویا تحت تنش شوری

Table 9- The interaction effect of proline nanoparticles and fish waste fertilizer essential nutrients of Stevia under salinity stress conditions

تنش شوری Salinity stress (mM)	تیمار Treatment	پرولین Proline ($mg.L^{-1}$)	کلسیم ریشه Root Ca (%)	پتاسیم ریشه Root K (%)	سدیم ریشه Root Na (%)
0	عدم استفاده Non-use	0	2.59 f	1.85 ef	3.42 hi
	پرولین Proline	10	2.82 d	2.008 e	3.24 ij
		20	2.64 ef	2.31 d	3.07 jk
	پرولین+ کود ماهی (۱۵٪) Proline + fish fertilizer (15%)	10	2.74 de	2.49 c	2.94 k
		20	4.23 b	2.64 abc	2.57 l
30	عدم استفاده Non-use	0	1.95 h	1.61 g	4.58 c
	پرولین Proline	10	2.01 h	1.84 ef	4.41 cd
		20	2.59 f	1.93 ef	3.83 ef
	پرولین+ کود ماهی (۱۵٪) Proline + fish fertilizer (15%)	10	2.74 de	2.005 e	3.66 gf
		20	4.89 a	2.69 ab	2.55 l
60	عدم استفاده Non-use	0	1.42 j	1.04 i	5.66 b
	پرولین Proline	10	1.57 i	1.29 h	5.51 b
		20	2.05 h	1.79 f	4.48 cd
	پرولین+ کود ماهی (۱۵٪) Proline + fish fertilizer (15%)	10	2.19 g	2.018 e	4.32 d
		20	3.75 c	2.58 bc	3.11 kj
90	عدم استفاده Non-use	0	0.95 l	0.8 j	7.5 a
	پرولین Proline	10	1.07 k	0.99 ij	7.27 a
		20	1.36 j	2.29 d	3.91 e
	پرولین+ کود ماهی (۱۵٪) Proline + fish fertilizer (15%)	10	1.46 ij	2.56 bc	3.59 gh
		20	2.53 f	2.8 a	3.25 ij

* حروف مشترک در هر ستون نشانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد به‌روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشد.

* Same letters indicate no significant differences ($p < 0.05$) based on Duncan's Multiple Range test.

تحت تنش شوری، H^+ -ATPaseهای غشای پلاسمایی سلول یک جریان هیدروژن ایجاد می‌کند که باعث تولید انرژی برای انتقال یون پتاسیم از طریق آنتی‌پورت پتاسیم/ هیدروژن شده و در نتیجه جذب مجدد سدیم تضمین می‌شود (Ketehouli et al., 2019). علاوه‌بر این، تنش شوری با ایجاد فشار اسمزی در محلول ریزوسفر خاک موجب جذب آب و مواد معدنی شده و اثر آنتاگونیستی (پتاسیم و کلسیم) را کاهش می‌یابد (Lindberg et al., 2012). این نتایج با نتایج تحقیقات دیگر محققان (Alnusairi et al., 2022) هم‌خوانی دارد. تحقیقات نشان داده‌اند که کود مایع ضایعات موجب کاهش تجمع سدیم در اندام‌هوایی گیاهان از طریق حذف آن از آوند چوبی می‌شود. حلالیت بالای کود مایع ضایعات ماهی و در دسترس بودن کلسیم و پتاسیم موجود در آن باعث جبران کمبود این عنصر ناشی از شوری می‌شود (Adem et al., 2014). محلول‌پاشی نانوذره پرولین باعث افزایش محتوای عناصر غذایی نظیر نیتروژن، فسفر، پتاسیم، کلسیم و منیزیم در ریشه گیاه می‌شود (Ali et al., 2008). کاربرد نانوذره پرولین، محتوای فسفر، پتاسیم و نسبت پتاسیم به سدیم را افزایش داد و سطوح سدیم را در گیاهان متأثر از نمک کاهش داد (Abdelhamid et al., 2013).

نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر با هدف بررسی کاربرد نانوذرات پرولین و کود مایع ضایعات ماهی به‌عنوان یک کود آلی روی گیاه استویا در شرایط شوری انجام شد. نانوذره پرولین و کود مایع ضایعات ماهی باعث افزایش شاخص‌های ریخت‌شناختی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گردید. نانوذره پرولین در غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر و کود مایع ضایعات ماهی (۱۵ درصد) می‌تواند به‌عنوان بهترین غلظت براساس شاخص‌های اندازه‌گیری‌شده برای کاهش اثرات شوری معرفی شود. ازاین‌رو، کاربرد هم‌زمان پرولین و کود مایع ضایعات ماهی را می‌توان به‌عنوان روشی مؤثر برای کاهش اثرات تنش روی گیاهان تحت شرایط تنش‌های محیطی مختلف اعلام کرد.

References

1. Abdelhamid, M. T., Rady, M. M., Osman, A. S, & Abdalla, M. A. (2013). Exogenous application of proline alleviates salt-induced oxidative stress in *Phaseolus vulgaris* L. plants. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, *88*, 439–446. https://doi.org/10.1080/14620316.2013.11512989
2. Adem, G. D., Roy, S. J., Zhou, M., Bowman, J. P., & Shabala, S. (2014). Evaluating contribution of ionic, osmotic and oxidative stress components towards salinity tolerance in barley. *BMC Plant Biology*, *14*, 113. https://doi.org/10.1186/1471-2229-14-113
3. Ahanger, M. A., Qin, C., Begum, N., Maodong, Q., Dong, X. X., El-Esawi, M., El-Sheikh, M. A., Alatar, A. A., & Zhang, L. (2019). Nitrogen availability prevents oxidative effects of salinity on wheat growth and photosynthesis by up-regulating the antioxidants and osmolytes metabolism, and secondary metabolite accumulation. *BMC Plant Biology*, *19*, 479. https://doi.org/10.1186/s12870-019-2085-3
4. Ali, Q., Ashraf, M., Shahbaz, M., & Humera, H. (2008). Ameliorative effect of foliar applied proline on nutrient uptake in water stressed maize (*Zea mays* L.) plants. *Pakistan Journal of Botany*, *40*, 211–219.
5. Alikhani, S., & Mahmudi Zarandi, M. (2019). Effect of coinoculation with endomycorrhiza, Pse*udomonas aeroginosa* and *Rhizobium meliloti* on *Medicago sativa* under water stress. *Journal of Plant Research*, *32*(1), 155–166. (In Persian). https://dor.isc.ac/dor/20.1001.1.23832592.1398.32.1.7.0
6. Alnusairi, G., Mazrou, Y., Qari, S., Elkelish, A., Soliman, M., Eweis, M., Abdelaal, K., El-Samad, G. A., Ibrahim, M., & ElNahhas, N. (2022). Exogenous nitric oxide reinforces photosynthetic efficiency, osmolyte, mineral uptake, antioxidant, expression of stressresponsive genes and ameliorates the effects of salinity stress in wheat. *Plants*, *11*, 576. https://doi.org/10.3390/plants10081693
7. Alzahrani, S. M., Alaraidh, I. A., Migdadi, H., Alghamdi, S., Khan, M. A., Ahmad, P. A. R., (2019). Physiological, biochemical, and antioxidant properties of two genotypes of *Vicia faba* grown under salinity stress. *Pakistan Journal of Botany*, *51*(3), 786-798. https://doi.org/10.30848/PJB2019-3(3)
8. Arif, Y., Singh, P., Siddiqui, H., Bajguz, A., & Hayat, S. (2020). Salinity induced physiological and biochemical changes in plants: an omic approach towards salt stress tolerance. *Plant Physiology and Biochemistry*, *156*, 64-77. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.08.042
9. Awlia, M., Alshareef, N., Saber, N., Korte, A., Oakey, H., Panzarová, K., & Julkowska, M. M. (2021). Genetic mapping of the early responses to salt stress in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal*, *107*(2), 544–563. https://doi.org/10.1111/tpj.15310
10. Ayman, M., Metwally, S., Mancy, M., & Abd alhafez, A. (2020). Influence of nano–silica on wheat plants grown in salt–affected soil. *International Journal of Product Development*, *25*, 279–296.
11. Bahari Saravi, H., Gholami, A., Pirdashti, H., Firouzabadi, M. B., Asghari, H., & Yaghoubian, Y. (2022). Improvement of salt tolerance in *Stevia rebaudiana* by co-application of endophytic fungi and exogenous spermidine. *Industrial Crops and Products*, *177*, 114443. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.114443
12. Balasubramaniam, T., .Shen, G., Esmaeili, N., & Zhang, H. (2023). Plants response mechanisms to salinity stress. *Plants*, *12*, 2253. https://doi.org/10.3390/plants12122253
13. Baldi, E., & Tosel Li, M. (2013). Root growth and survivorship in cow manure and compost amended soils. *Plant Soil Environment*, *59*(5), 221–226. https://doi.org/10.17221/857/2012-PSE
14. Balraj, H. T., Palani., S., & Arumugam, G. (2014). Influence of Gunapaselam, a liquid fermented fish waste on the growth characteristics of *Solanum melongena*. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, *6*(12), 58–66.
15. Bates, L., Waldren, R., & Teare, I. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, *39*(1), 205–207. https://doi.org/10.1007/BF00018060

16. Chapman, H. D., & Pratt, D. F. (1961). Methods of Analysis for Soil, Plant and Water; University of California Agricultural Science: Davis, CA, USA. pp. 60–62. https://agris.fao.org/search/en/providers/122535/records/65dde56f7c7033e84be8a9f2
17. Dai, W. S., Wang, M., Gong, X. Q., & Liu, J. H. (2018). The transcription factor FcWRKY40 of *Fortunella crassifolia* functions positively in salt tolerance through modulation of ion homeostasis and proline biosynthesis by directly regulating SOS2 and P5CS1 homologs. *New Phytologist*, *219*, 972–989. https://doi.org/10.1111/nph.15240
18. De Freitas, P. A. F., de Carvalho, H. H., Costa, J. H., Miranda, R. S., Saraiva, K. D. C., Oliveira, F. D. B., Coelho, D. G., Prisco, J. T., & Gomes-Filho, E. (2019). Salt acclimation in sorghum plants by exogenous proline: Physiological and biochemical changes and regulation of proline metabolism. *Plant Cell Reports*, *38*, 403–416. https://doi.org/10.1007/s00299-019-02382-5
19. Ekinci, M., Atamanalp, M., Turan, M., Alak, G., Kul, R., Kitir, N., & Yildirim. E. (2019). Integrated use of nitrogen fertilizer and fish manure: effects on the growth and chemical composition of spinach. commun. *Oil Science and PlantAnalysis*, *50*(2), 1580–1590. https://doi.org/10.1080/00103624.2019.1631324
20. El-Tarabily, K. A., Nassar, A. H., & Hardy, G. E. (2003). Fish emulsion as a food base for rhizobacteria promoting growth of radish (*Raphanus sativus* L. var. Sativus) in a sandy soil. *Plant and Soil*, *252*, 397–411. https://doi.org/10.1023/A:1024729620154
21. Fageria, N. K. (2009). The Use of Nutrients in Crop Plants. CRC. Press, Boca Raton. FL. USA pp. 230-240. https://doi.org/10.1201/9781420075113
22. Forouzi, A., Ghasemnezhad, A., & Ghorbani, R. (2020). Phytochemical response of *Stevia* plant to growth promoting microorganisms under salinity stress. *South African Journal of Botany*, *134*, 109-118. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.04.001
23. Gohari, G. H., Panahirad, S., Sepehri, N., Akbari, A., Zahedi, S. M., Hessam Jafari, H., Dadpour, M. R., & Fotopoulos, V. (2021). Enhanced tolerance to salinity stress in grapevine plants through application of carbon quantum dots functionalized by proline. *Environmental Science and Pollution Research*, *28*, 42877–42890. https://doi.org/10.1007/s11356-021-13794-w
24. Heath, R. L. M., & Packer, I. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, *125*, 189–198. https://doi.org/10.1016/0003-9861(68)90654-1
25. Hosseinifard, M., Stefaniak, S., Ghorbani, J. 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
26. Hu, Y., Xia, S., Su, Y., Wang, H., Luo,W., Su, S., & Xiao, L. (2016). Brassinolide increases potato root growth in vitroin a dose-dependent way and alleviates salinity stress. *Research International Biomed*. 8231873. https://doi.org/10.1155/2016/8231873
27. Ikram, M., Ali, N., Jan, G., Guljan, F., & Khan, N. (2019). Endophytic fungal diversity and their interaction with plants for agriculture sustainability under stressful condition. *Recent Patents on Food, Nutrition & Agriculture*. https://doi.org/10.2174/2212798410666190612130139
28. Ishak, N. H., & Sarbon, N. M. A. (2017). A review of protein hydrolysates and bioactive peptides deriving from wastes generated by fish processing. *Food Bioprocess Technol*, *11*, 2–16. https://doi.org/10.1007/s11947-017-1940-1
29. Ketehouli, T., Idrice Carther, K. F., Noman, M., Wang, F. W., Li, X. W., & Hai-Yan Li, H. Y. (2019). Adaptation of plants to salt stress: Characterization of Na^+ and K^+ transporters and role of CBL gene family in regulating salt stress response. *Agronomy*, *9*, 687. https://doi.org/10.3390/agronomy9110687
30. Koksal, N., Alkan-Torun, A., Kulahlioglu, I., Ertargin, E., & Karalar, E. (2016). Ion uptake of marigold under saline growth conditions. *Springer Plus*, *5*, 139.
31. Ksouri, R., Megdiche, W., Debez, A., Falleh, H., Grignon, C., & Abdelly, C. (2007). Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. *Plant Physiology and Biochemistry*, *45*(3), 244–249. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2007.02.001
32. Kurunc, A., Ece Aslan, G., Cihan Karaca, C., Ahmet Tezcan, A., Turgut, K., Karhan, M., & Kaplan, B. (2020). Effects of salt source and irrigation water salinity on growth, yield and quality parameters of *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Scientia Horticulturae, 270*, 109458. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109458

33. Lindberg, S., Abdul Kader, M. D., & Yemelyanov, V. (2012). Calcium Signalling in Plant Cells under Environmental Stress. In Environmental Adaptations and Stress Tolerance of Plants in the Era of Climate Change; Springer: New York, NY, USA. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-0815-4_15
34. Maathuis, F. J. M., Ahmad, I., & Patishtan, J. (2014). Regulation of Na^+ fluxes in plants. Front. *Plant Science*, *5*, 467. https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00467
35. Mahdavi, Z., Esmailpour, B., Azarmi, R., Panahirad, S., Ntatsi, G., Gohari, G., & Fotopoulos, V. (2024). Fish waste—A novel bio-fertilizer for stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) under salinity-induced stress. *Plants 13*, 1909. https://doi.org/10.3390/plants13141909
36. Maschmeyer, T., Luque, R., & Selva, M. (2020). Upgrading of marine (fish and crustaceans) biowaste for high added-value molecules and bio(nano)-materials. *Chemical Society Reviews*, *49*, 4527. https://doi.org/10.1039/c9cs00653b
37. Merwad, A. R. M., Desoky, E. S. M., & Rady, M. M. (2018). Response of water deficit-stressed *Vigna unguiculata* performances to silicon, proline or methionine foliar application. *Scientia Horticulturae, 228*, 132–144. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.10.008
38. Metwally, R., Solimana, S. A., Hamed, A. A., Latef, A., & Abdelhamee, R. (2021). The individual and interactive role of arbuscular mycorrhizal fungi and *Trichoderma viride* on growth, protein content, amino acids fractionation, and phosphatases enzyme activities of onion plants amended with fish waste. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *214*, 112072. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112072
39. Minh, D. T. K., Ha, P. T. T., Tuyen, P. T., Minh, T. N., Quan, N. V., & Xuan, T. (2016). Effects of salinity stress on growth and phenolics of rice (*Oryza sativa* L.) luong. *International Letters of Natural Sciences*, *57*, 1. https://doi.org/10.18052/www.scipress.com/ILNS.57.1
40. Moustakas, M., Sperdouli, I., Kouna, T., & Antonopoulou Ioannis, C. I. (2011). Exogenous proline induces soluble sugar accumulation and alleviates drought stress effects on photosystem II functioning of *Arabidopsis thaliana* leaves. *Plant Growth Regulation*, *65*, 315–325. https://doi.org/10.1007/s10725-011-9604-z
41. Muscolo, A., Mauriello, F., Marra, F., Calabrò, P. S., Russo, M., Ciriminna, R., & Pagliaro, M. (2022). AnchoisFert: A new organic fertilizer from fish processing waste for sustainable agriculture. *Research Article*, *6*, 2100141. https://doi.org/10.1002/gch2.202100141
42. Nazmul Hossain, M., Sarker, U., Sharif Raihan, M. D., Asma, A., Al-Huqail, A. A., Siddiqui, M. H., & Oba, S. H. (2022). Influence of salinity stress on color parameters, leaf pigmentation, polyphenol and flavonoid contents, and antioxidant activity of *Amaranthus lividus* leafy vegetables. *Molecules*, *27*(6), 18-21. https://doi.org/10.3390/molecules27061821
43. Omokolo, N. D., Tsala, N. G., Kanmegne, G., & Balange, A. P. (1992). *In vitro* induction of multiple shoots, plant regeneration and tuberization from tips of cocoyam. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, *318*, 773–778.
44. Osman, H. S. (2015). Enhancing antioxidant–yield relationship of pea plant under drought at different growth stages by exogenously applied glycine betaine and proline. *Annals of Agricultural Sciences | Journal*, *60*, 389–402. https://doi.org/10.1016/j.aoas.2015.10.004
45. Redman, R., Haraldson, J., & Gusta, L. (1986). Leakage of UV- absorbing substances as a measure of salt injury in leaf tissue of woody spicies. *Plant Physiology*, *67*, 87–91. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1986.tb01267.x
46. Riaz, S., Hussain, I., Ibrahim, M., Rasheed, R., & Ashraf, M. A. (2021). Choline chloride mediates salinity tolerance in cluster bean (*Cyamopsis tetragonoloba* L.) by improving growth, oxidative defense, and secondary metabolism. *Dose-Response*: *An International Journal*, 1-19. https://doi.org/10.1177/15593258211055026
47. 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*, 105-111. https://doi.org/10.2135/cropsci1990.0011183X003000010025x
48. Rojas, E., Bermúdez,V., Motlaghzadeh,Y., Mathew, J., Fidilio, E., Faria, J., Rojas, J., de Bravo, M. C., Contreras, J., Mantilla, L. P., Angarita, L., Sepúlveda, P. A., & Kuzmar, I. (2018). *Stevia rebaudiana* Bertoni and its effects in human disease:emphasizing its role in inflammation, ather osclerosis and metabolicsyndrome. *Current Nutrition Reports*, *7*, 170. https://doi.org/10.1007/s13668-018-0228-z
49. Safikhan, S., Chaichi, M. R., Khoshbakht, K., Amini, A., & Motesharezadeh, B. (2018). Application of nanomaterial graphene oxide on biochemical traits of Milk thistle (*Silybum marianum* L.) under salinity stress. *American Journal of Climatic Studies*, *12*(06), 931-936.

50. Saini, S., Sharma, I., & Pati, P. K. (2015). Versatile roles of brassinosteroid in plants in the context of its homoeostasis, signaling and crosstalks. *Frontiers in Plant Science*, *6*, 950. https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00950
51. Sarker, U., & Oba, S. (2019). Salinity stress enhances color parameters, bioactive leaf pigments, vitamins, polyphenols, flavonoids and antioxidant activity in selected *Amaranthus* leafy vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *99*, 2275–2284. https://doi.org/10.1002/jsfa.9423
52. Seraj, F., Pirdashti, H., Yaghoubian, Y., & Ghasemi Omran, V. (2016). The effect of *Piriformospora indica* inoculation on salt and drought stress tolerance in *Stevia rebaudiana* under *in vitro* conditions. *Iranian Journal of Plant Biology*, *8*(29),1-20. (in Persian). https://doi.org/10.22108/ijpb.2016.21032
53. Sergiev, I., Alexieva, V., & Karanov, E. (1997). Effect of spermine, atrazine and combination between them on some endogenous protective systems and stress markers in plants. *Comptes Rendus de Académie des Sciences*, *51*, 121–124.
54. Shahsavani, S., Abaspour, A., Parsaeeyan, M., & Yonesi, Z. (2017). Effect of fish waste, chemical fertilizer and bio-fertilizer on yield and yield components of bean (*Vigna sinensis*) and some soil properties. *Iranian Journal Pulses Research*, 8, 45–59. (in Persian). https://doi.org/10.22067/ijpr.v8i1.47428
55. Shams, H., Yildirim, E., Arslan, E., & Agar, G. (2020). Salinity induced alteration in DNA methylation pattern, enzyme activity, nutrient uptake and H_2O_2 content in pepper (*Capsicum annuum* L.) cultivars. *Acta Physiologiae Plantarum*, *42*, 59. https://doi.org/10.1007/s11738-020-03053-9
56. Shetty, K. (1997). Biotechnology to harness the benefits of dietary phenolics; focus on Lamiaceae. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, *6*, 162–171.
57. Wani, A. S., Ahmad, A., Hayat, S., & Tahir, I. (2019). Epibrassinolide and proline alleviate the photosynthetic and yield inhibition under salt stress by acting on antioxidant system in mustard. *Plant Physiology and Biochemistry*, *135*, 385-394. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.01.002
58. Whiting, D., Wilson, C., & Card, A. (2005). Organic Fertilizers. In Colorado Master Gardener; Colorado State University: Denver, CO, USA, 2005; pp. 1–5.
59. Xu, C., Zhang, Y., Cao, L., & Lu, J. (2010). Phenolic compounds and antioxidant properties of different grape cultivars grown in China. *Food Chemistry*, *119*, 1557–1565. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.09.042
60. Zahedi, S. M., Abolhassani, M., Hadian-Deljou, M., Feyzi, H., Akbari, A., Rasouli, F., Koçak, M. Z., Muhittin Kulak, F., & Gohari, G. (2023). Proline-functionalized graphene oxide nanoparticles (GO-Pro NPs): A new engineered nanoparticle to ameliorate salinity stress on grape (*Vitis vinifera* L. cv Sultana). *Plant Stress*, *7*, 100128. https://doi.org/10.1016/j.stress.2022.100128
61. Zhao, D., Fang, Z., Tang, Y., & Tao, J. (2020). Graphene oxide as an effective soil water retention agent can confer drought stress tolerance to paeonia ostii without toxicity. *Environmental Science and Technology*, *54*, 8269-8279. https://doi.org/10.1021/acs.est.0c02040

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

Research Article
Vol. 40, No. 3, Fall 2026, p. 453-465

Investigating the Effects of Different Elicitors on Growth and Phytochemical Characteristics of Sage (*Salvia officinalis* L.) under Hydroponic Cultivation System

R. Azadi Gonbad[1*], N. Farhadi[2]

1- Tea Research Center, Horticultural Science Research Institute, AREEO, Lahijan, Iran
2- Greenhouse and Controlled Environments Research Center (GCER), Horticultural Science Research Institute (HSRI), AREEO, Karaj, Iran
(*- Corresponding author's Email: reza.azadi1352@gmail.com)

Received: 02 August 2025
Revised: 28 September 2025
Accepted: 29 September 2025
Available Online: 29 September 2025

How to cite this article:
Azadi Gonbad, R., & Farhadi, N. (2026). Investigating the effects of different elicitors on growth and phytochemical characteristics of sage (*Salvia officinalis* L.) under hydroponic cultivation system. *Journal of Horticultural Science*, *40*(3), 453-465. (In Persian). https://doi.org/10.22067/jhs.2025.94738.1449

Introduction

Hydroponic systems have emerged as an advanced method for cultivating medicinal plants, offering precise control over environmental and nutritional factors to enhance the production of secondary metabolites. Chemical elicitors, such as salicylic acid (SA) and methyl jasmonate (MeJA), play a key role in stimulating plant defense responses and increasing the synthesis of valuable phytochemical compounds. These compounds alleviate biotic and abiotic stress signals, triggering plant defense mechanisms and stimulating the biosynthesis of valuable secondary metabolites, including phenolics, flavonoids, and essential oils (Mehdizadeh and Moghaddam, 2023). *Salvia officinalis* L. (sage), a perennial aromatic plant from the Lamiaceae family, is known for its medicinal properties and rich content of bioactive compounds, including essential oils and phenolic derivatives. Recent studies have demonstrated that exogenous application of SA and MeJA can significantly influence plant growth and secondary metabolism. However, their effects are highly concentration-dependent and species-specific, necessitating further research to determine optimal dosages for different medicinal plants (Mohi-Ud-Din et al., 2025). While some studies have explored the individual effects of these elicitors, their synergistic interactions in hydroponically grown sage remain understudied (Jeyasri et al., 2023). This study investigates the synergistic effects of SA and MeJA foliar application on the growth, phytochemical composition, and antioxidant activity of sage in a hydroponic system.

Materials and Methods

This experiment was conducted as a factorial design based on a completely randomized design with three replications. Treatments included the foliar application of SA (0, 0.5, and 1 mM) and MeJA (0, 0.25, and 0.5 mM). Sage seeds were germinated under controlled conditions, and seedlings were transferred to a hydroponic system with a perlite-cocopeat (3:1, v/v) substrate. Plants were grown under natural light, with temperatures maintained at 20–30°C and relative humidity at 70–80%. Nutrient solutions were provided using Hoagland's formula (EC 1.6 $dS.m^{-1}$). Foliar treatments were applied at three growth stages: initial three-leaf, six-leaf, and flowering onset. Ten days after the final treatment, biomass, photosynthetic pigments, antioxidant enzyme activities (POX, APX, SOD), phenylalanine ammonia-lyase (PAL) activity, phenolic and flavonoid content, essential oil percentage, and antioxidant capacity (DPPH assay) were evaluated.

Results and Discussion

Authors retain the copyright. This is an open access article distributed under Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0).
https://doi.org/10.22067/jhs.2025.94738.1449

The experimental results demonstrated that the foliar application of salicylic acid and methyl jasmonate significantly influenced the growth, physiological traits, and phytochemical composition of hydroponically cultivated sage. The combined treatment of 0.5 mM SA and 0.25 mM MeJA produced the highest fresh (49.00 g) and dry (21.48 g) biomass, indicating a synergistic effect on plant growth. This enhancement can be attributed to the role of SA in promoting cell division and elongation, while MeJA at low concentrations stimulates metabolic activity without inducing excessive stress. However, higher MeJA concentrations (0.5 mM) exhibited inhibitory effects, likely due to the overactivation of defense mechanisms that divert energy away from growth-related processes. Photosynthetic pigments, including chlorophyll and carotenoids, were significantly influenced by the elicitor treatments. The combination of 1 mM SA and 0.25 mM MeJA resulted in the highest carotenoid content (2.34 $mg.g^{-1}$ FW), suggesting that moderate elicitation enhances photosynthetic efficiency. Conversely, excessive MeJA (0.5 mM) led to a reduction in chlorophyll content, possibly due to accelerated senescence or oxidative stress. The application of SA and MeJA also induced a marked increase in antioxidant enzyme activities, including POX, SOD, and APX. Among the highest activities, POX was maximized in the combined treatment of 0.5 mM SA and 0.25 mM MeJA (20.49 $U.mg^{-1}$ protein), while the highest APX (6.96 $U.mg^{-1}$ protein) and SOD (1.95 $U.mg^{-1}$ protein) activities were recorded in plants treated with 0.25 mM MeJA alone. These enzymes are critical for scavenging reactive oxygen species (ROS), which accumulate under elicitor-induced stress. The upregulation of these defense mechanisms not only protects cellular integrity but also stimulates the biosynthesis of secondary metabolites. A key finding was the significant increase in phenylalanine ammonia-lyase activity, a rate-limiting enzyme in the phenylpropanoid pathway. The highest PAL activity was observed in plants treated with 1 mM SA alone or in combination with 0.25 mM MeJA, correlating with elevated levels of total phenolics and flavonoids. Phenolic compounds, such as rosmarinic acid, are major bioactive constituents in sage, contributing to its antioxidant and antimicrobial properties. The increase in flavonoid content, particularly under the combination of 0.5–1 mM SA and 0.25 mM MeJA, further supports the role of these elicitors in activating secondary metabolic pathways. One of the most notable outcomes was the 39% increase in essential oil content under the 0.5 mM SA + 0.25 mM MeJA treatment. Essential oils in sage are synthesized via the terpenoid pathway, which appears to be strongly induced by these elicitors. The enhanced essential oil yield was accompanied by a significant improvement in antioxidant capacity, as evidenced by the DPPH radical scavenging assay. This suggests that the elicited plants not only produced higher quantities of bioactive compounds but also exhibited stronger free-radical quenching activity, which is valuable for medicinal and nutraceutical applications. These findings align with previous studies indicating that SA and MeJA act synergistically at optimal concentrations to enhance secondary metabolite production while maintaining plant growth. However, the negative effects of high MeJA levels (0.5 mM) underscore the importance of dosage optimization, as excessive elicitation can lead to phytotoxicity and metabolic imbalance.

Conclusion

This study demonstrated that the combined application of salicylic acid and methyl jasmonate in a hydroponic growth medium serves as a powerful tool for regulating growth and enhancing the production of secondary metabolites in sage plants (*S. officinalis*). A key finding was the identification of an optimal treatment combination (0.5-1 mM salicylic acid coupled with 0.25 mM methyl jasmonate), which synergistically increased biomass, essential oil content, and antioxidant activity. In contrast, higher concentrations of methyl jasmonate alone were found to inhibit growth. The implications of this research are significant, as it shows that by precisely modulating elicitor concentrations, the metabolic balance between growth and defense compound synthesis can be strategically managed to meet agricultural and pharmaceutical objectives. This approach holds considerable potential for the large-scale production and standardization of high-quality medicinal plants in controlled cultivation systems. Future research should focus on elucidating the molecular mechanisms underlying these synergistic effects, as well as evaluating the efficacy of these treatments in other plant species.

Keywords: Antioxidant capacity, Biomass, Essential oil, Methyl jasmonate, Salicylic acid

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

مقاله پژوهشی

جلد ۴۰، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۵، ص. ۴۶۵-۴۵۳

بررسی اثر الیسیتورهای مختلف بر خصوصیات رشدی و فیتوشیمیایی گیاه مریم‌گلی (*Salvia officinalis* L.) در شرایط کشت هیدروپونیک

رضا آزادی گنبد[1*]- نسرین فرهادی[2]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۵/۱۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۷/۰۷

چکیده

استفاده از الیسیتورها در سیستم‌های کشت کنترل‌شده، راهکاری نوین برای بهبود کیفیت گیاهان دارویی است. در این راستا، پژوهش حاضر به‌منظور بررسی اثر محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک (در سه سطح صفر، ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار) و متیل جاسمونات (در سه سطح صفر، ۰/۲۵ و ۰/۵ میلی‌مولار) بر خصوصیات رشدی و فیتوشیمیایی گیاه مریم‌گلی (*Salvia officinalis* L.) در بستر هیدروپونیک در گلخانه تحقیقاتی پژوهشکده گلخانه و محیط‌های کنترل‌شده طی سال ۱۴۰۴-۱۴۰۳ اجرا گردید. نتایج نشان داد که کاربرد ترکیبی الیسیتورها دارای اثر هم‌افزایی قابل توجهی بود، به‌طوری که تیمار ۰/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک به همراه ۰/۲۵ میلی‌مولار متیل جاسمونات، بیشترین زیست‌توده (وزن تر و خشک) را تولید کرد. همچنین ترکیبات مختلف این دو الیسیتور منجر به افزایش معنی‌دار رنگیزه‌های فتوسنتزی، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز)، محتوای ترکیبات فنولی کل و درصد اسانس گردید. به‌طورکلی، این پژوهش نشان داد که تیمار ترکیبی و بهینه الیسیتورها می‌تواند به‌عنوان یک راهکار مؤثر برای افزایش هم‌زمان عملکرد کمّی (زیست‌توده) و کیفی (متابولیت‌های ثانویه) تولید صنعتی گیاه مریم‌گلی در سیستم‌های کشت بدون خاک به کار رود.

واژه‌های کلیدی: اسانس، اسید سالیسیلیک، زیست‌توده، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، متیل جاسمونات

مقدمه

کشت هیدروپونیک به‌عنوان یک سیستم پیشرفته در کشت گیاهان دارویی، با حذف محدودیت‌های خاک و امکان کنترل دقیق عوامل محیطی و تغذیه‌ای، نقش مهمی در افزایش کمیت و کیفیت متابولیت‌های ثانویه ایفا می‌کند. دراین‌میان، استفاده از الیسیتورهای محیطی و شیمیایی در شرایط هیدروپونیک به‌عنوان ابزاری کارآمد برای تحریک پاسخ‌های دفاعی گیاهان و افزایش تولید ترکیبات فیتوشیمیایی ارزشمند مورد توجه قرار گرفته است (Bashabsheh et al., 2021). استفاده از محرک‌های شیمیایی به‌عنوان راهکاری مؤثر برای افزایش رشد و بهبود عملکرد و کیفیت تولید ترکیبات مختلف ترپنوئیدی، فنولی و آلکالوئیدی در گونه‌های مختلف گیاهان دارویی گزارش شده است (Khan et al., 2015; Sohn et al., 2022). هورمون‌های گیاهی، ترکیبات محرک رشد و نانوذرات از الیسیتورهای شیمیایی هستند که از طریق فعال‌سازی سیستم دفاعی، تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان را تحریک می‌کنند (Wang et al., 2016). استفاده از ترکیبات هورمونی به‌عنوان الیسیتور، با تحت تأثیر قرار دادن خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه، رشد و عملکرد را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Tafreshi et al., 2025). اسید سالیسیلیک (SA)[2] و متیل جاسمونات (MeJA)[3] از مهم‌ترین هورمون‌های گیاهی هستند که با القای تولید مواد فعال زیستی و بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، مقاومت گیاهان را در برابر تنش‌های محیطی و زیستی افزایش می‌دهند (Bozaba & Kuru, 2024; Hussain et al., 2022). اثر

۱- پژوهشکده چای، مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، لاهیجان، ایران

۲- پژوهشکده گلخانه و محیط‌های کنترل‌شده، مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

(*- نویسنده مسئول: (Email: reza.azadi1352@gmail.com

https://doi.org/10.22067/jhs.2025.94738.1449

2- Salicylic acid (SA)
3- Methyl jasmonate (MeJA)

متیل جاسمونات و اسید سالیسیلیک بر افزایش زیست‌توده و ترکیبات فیتوشیمیایی در گونه‌های مختلف گیاهی از جمله تره‌تیزک (*Lepidium sativum* L.) (Klimek-Szczykutowicz et al., 2022)، بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) (Medeiros et al., 2024) و نسترن (*Rosa canina* L.) (Tafreshi et al., 2025) گزارش شده است. نکته جالب توجه، تأثیر هم‌افزایی دو ترکیب اسید سالیسیلیک و متیل جاسمونات در افزایش تولید ترکیبات مختلف فنولی و اسانس است (Jeyasri et al., 2023; Tafreshi et al., 2025). اگرچه استفاده از الیسیتورها در کشت هیدروپونیک امیدوارکننده است، امّا چالش‌هایی مانند سمیت در غلظت‌های بالا و تداخل اثرات با سایر عوامل محیطی وجود دارد، از طرف دیگر اثرات الیسیتورها بسته به گونه گیاهی متفاوت می‌باشد (Mehdizadeh & Moghaddam, 2023). بنابراین برای افزایش اثر الیسیتورهای مختلف بر بهبود زیست‌توده و عملکرد تولید متابولیت‌های ثانویه در شرایط کشت هیدروپونیک نیاز است که نوع، شدت و غلظت بهینه هر یک از الیسیتورهای محیطی و شیمیایی برای هر گونه گیاهی بهینه شود (Atherton & Li, 2023).

مریم گلی (*Salvia officinalis* L.) از مهم‌ترین گونه‌های معطر و دارویی خانواده نعناعیان است. در حال حاضر، مریم گلی به‌دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی بالا و اثرات دارویی مهمی از جمله ضداسپاسم، ضدعفونی‌کننده، آنتی‌بیوتیک و آرام‌بخش، در صنایع مختلف غذایی و دارویی کاربردهای فراوانی دارد (Koubaa et al., 2021). مریم‌گلی حاوی ترکیبات زیست‌فعال ارزشمندی است که مهم‌ترین آن‌ها را اسانس و مشتقات فنولی تشکیل می‌دهند که ترکیب شیمیایی و خواص بیولوژیکی آن‌ها به عوامل متعددی از جمله موقعیت جغرافیایی، شرایط محیطی (دما، نور خورشید، رطوبت و اسیدیته خاک) و روش‌های استخراج بستگی دارد (Karalija et al., 2022). مطالعات نشان می‌دهد که قرار گرفتن این گیاه در معرض محرک‌های مختلف زیستی و غیرزیستی می‌تواند موجب تغییرات معنی‌داری در ترکیبات متابولیتی آن گردد (Bozaba & Kuru, 2024; Pesaraklu et al., 2021). نتایج کاندودی و همکاران (Kandoudi et al., 2021) نشان داد که کاربرد متیل جاسمونات در غلظت‌های پایین می‌تواند موجب تحریک رشد رویشی گیاه مریم‌گلی شود، درحالی‌که غلظت‌های بالاتر ممکن است با تخصیص منابع گیاه به تولید ترکیبات دفاعی، رشد گیاه را کاهش دهد. افزایش ترکیبات فنولی گیاه مریم‌گلی در واکنش به متیل جاسمونات توسط گرزگورچیک-کارولاک و همکاران (Grzegorczyk-Karolak et al., 2024) گزارش شده است. محلول‌پاشی گیاه مریم‌گلی با اسید سالیسیلیک، مقدار اسانس این گیاه را تا ۲۵ درصد افزایش داد که به فعال‌سازی آنزیم‌های کلیدی مسیر بیوسنتز ترپنوئیدها تحت تأثیر اسید سالیسیلیک نسبت داده شده است (Es-sbihi et al., 2020).

استفاده از الیسیتورها در سیستم‌های کشت کنترل‌شده مانند کشت هیدروپونیک که امکان تنظیم دقیق غلظت و شدت محرک‌ها وجود دارد، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است و می‌تواند زمینه‌های جدیدی را در تولید صنعتی ترکیبات دارویی از گیاهان مختلف از جمله مریم‌گلی فراهم آورد. بر این اساس، در پژوهش حاضر اثر ترکیبی محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک و متیل جاسمونات بر رشد، ترکیبات فیتوشیمیایی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه مریم‌گلی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به‌صورت فاکتوریل برپایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام گرفت. تیمارهای آزمایشی شامل دو الیسیتور شامل اسید سالیسیلیک در سه غلظت (صفر، ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار) و متیل جاسمونات در سه سطح (صفر، ۰/۲۵ و ۰/۵ میلی‌مولار) بودند. این پژوهش در سیستم کشت هیدروپونیک با بستر کشت حاوی پرلیت و کوکوپیت (نسبت سه به یک) در گلخانه تحقیقاتی پژوهشکده گلخانه و محیط‌های کنترل‌شده طی سال ۱۴۰۴-۱۴۰۳ انجام شد. بذرهای مریم‌گلی (*Salvia officinalis* L.) از شرکت پاکان بذر با قوه نامیه ۹۰ درصد تهیه گردید. جهت شکستن خواب بذرهای مریم‌گلی، بذرها به مدت دو هفته در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سرمادهی شدند. سپس در سینی‌های نشاء (۵۰ حفره‌ای با ابعاد حفره ۴/۵ در ۴/۵ سانتی‌متر و ارتفاع هفت سانتی‌متر) کشت و پس از چهار برگی شدن به گلدان‌های اصلی انتقال یافتند. گیاهان تحت شرایط نور طبیعی، دمای ۳۰-۲۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۸۰-۷۰ درصد رشد کردند. طول دوره نور طبیعی در زمان انجام آزمایش، ۱۶ ساعت در روز بوده است و شدت نور محیط گلخانه طی ساعات میانی روز در محدوده ۸۰۰ تا ۱۰۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه متغیر بود. محلول غذایی هوگلند با هدایت الکتریکی ۱/۶ دسی‌زیمنس بر متر برای تغذیه گیاهان استفاده شد. محلول‌پاشی تیمارها در سه مرحله رشدی (سه برگی، شش برگی و آغاز گل‌هی) صورت گرفت. ده روز پس از آخرین محلول‌پاشی، صفات رشدی، فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی مورد ارزیابی قرار گرفتند.

سنجش صفات رشدی و فیزیولوژیکی

عملکرد بیولوژیکی

پس از برداشت، اندام‌های هوایی گیاهان هر گلدان جدا شده و به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند، سپس وزن خشک آن‌ها به‌عنوان عملکرد بیولوژیکی ثبت گردید (Shahhoseini et al., 2024).

رنگیزه‌های فتوسنتزی

برای اندازه‌گیری میزان رنگیزهای فتوسنتزی، کلروفیل و کاروتنوئیدها، نمونه‌های تازه برگ با استفاده از استون ۸۰ درصد استخراج گردید. محلول حاصل به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد و میزان جذب محلول رویی در طول‌موج‌های ۴۷۰، ۶۴۸ و ۶۶۴ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید. مقدار کلروفیل کل و کارتنوئیدها براساس میلی‌گرم بر گرم وزن تر طبق روش لیچنتالر (Lichtenthaler, 1987) محاسبه شد.

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

جهت استخراج آنزیم، بافت برگ تازه با بافر فسفات پتاسیم (۵۰ میلی‌مولار) ساییده و عصاره حاصل سانتریفیوژ گردید. از محلول رویی به‌عنوان عصاره آنزیمی برای سنجش‌های بعدی استفاده شد. غلظت پروتئین کل در عصاره آنزیمی نیز به‌روش برادفورد (Bradford, 1976) و با استفاده از آلبومین سرم گاوی به‌عنوان استاندارد تعیین گردید.

آنزیم پراکسیداز (POX)

فعالیت آنزیم پراکسیداز براساس سنجش نرخ تشکیل تتراگایاکول از گایاکول اندازه‌گیری شد (Chance & Maehly, 1955). در این روش، عصاره آنزیمی به مخلوط واکنش حاوی بافر فسفات پتاسیم (۱۰۰ میلی‌مولار) و محلول گایاکول (۲۰ میلی‌مولار) افزوده شد. واکنش با اضافه نمودن پراکسید هیدروژن (۱۰ میلی‌مولار) آغاز گردید و تغییرات جذب نوری به مدت ۹۰ ثانیه در طول‌موج ۴۷۰ نانومتر ثبت شد. فعالیت ویژه آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی تتراگایاکول (۲۶/۶ میلی‌مولار بر سانتی‌متر) محاسبه و برحسب واحد (میلی‌مول تتراگایاکول تولیدشده در دقیقه) بر میلی‌گرم پروتئین گزارش گردید.

آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX)

فعالیت این آنزیم براساس میزان اکسیداسیون اسید آسکوربیک (Nakano & Asada, 1981) سنجیده شد. مخلوط واکنش شامل بافر پتاسیم فسفات (۵۰ میلی‌مولار، pH = ۷)، آسکوربات (۰/۵ میلی‌مولار)، آب اکسیژنه (۰/۱ میلی‌مولار) و ۱۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. کاهش جذب ناشی از اکسیداسیون آسکوربات به مدت دو دقیقه در طول‌موج ۲۹۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی (۲/۸ میلی‌مولار بر سانتی‌متر) محاسبه و برحسب واحد (میلی‌مول اسید آسکوربیک اکسیدشده در دقیقه) بر میلی‌گرم پروتئین بیان گردید.

آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD)

برای سنجش فعالیت این آنزیم، از روش مهار احیای نوری نیتروبلوتترازولیوم (NBT) استفاده گردید (Sairam et al., 1998). بدین منظور، عصاره آنزیمی به مخلوط واکنش حاوی بافر فسفات پتاسیم (۵۰ میلی‌مولار، pH = ۷)، EDTA (۰/۱ میلی‌مولار)، نیتروبلوتترازولیوم (۰/۵ میلی‌مولار)، متیونین (۱۳ میلی‌مولار) و ریبوفلاوین (چهار میکرومولار) اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در معرض نور فلورسنت (۴۰ وات) قرار گرفت و سپس جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۶۰ نانومتر قرائت شد. فعالیت آنزیم براساس میزان مهار احیای NBT در مقایسه با نمونه شاهد (فاقد عصاره آنزیمی) ارزیابی و برحسب واحد (میلی‌مول نیتروبلوتترازولیوم احیاشده در دقیقه) بر میلی‌گرم پروتئین محاسبه گردید.

سنجش ترکیبات فیتوشیمیایی

فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL)

برای اندازه‌گیری فعالیت این آنزیم، ابتدا عصاره آنزیمی از بافت برگ با استفاده از بافر تریس (۱۰۰ میلی‌مولار) استخراج شد. مخلوط واکنش شامل ۰/۵ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی، یک میلی‌لیتر سوبسترای فنیل آلانین (۱۰ میلی‌مولار)، یک میلی‌لیتر بافر تریس و یک میلی‌لیتر آب دیونیزه بود. نمونه‌ها به مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و در شرایط تاریکی انکوبه شدند. در پایان، واکنش با افزودن ۰/۵ میلی‌لیتر اسیدکلریدریک (دو مولار) متوقف گردید. جذب نوری محلول حاصل در طول موج ۲۹۰ نانومتر به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. فعالیت آنزیم براساس میزان سینامات تولیدشده، محاسبه و برحسب نانومول بر میلی‌گرم پروتئین گزارش گردید (Beaudoin-Eagan & Thrope, 1985).

تهیه عصاره متانولی و سنجش ترکیبات فنولی

نمونه‌های برگی با متانول ۹۹ درصد عصاره‌گیری و سپس سانتریفیوژ شدند. از عصاره رویی برای اندازه‌گیری محتوای فنول و فلاونوئید کل استفاده گردید (Aryal et al., 2019).

فنول کل

اندازه‌گیری مقدار فنول کل در عصاره متانولی با استفاده از معرف فولین–سیوکالتو انجام شد (Aryal et al., 2019). بدین منظور، پس از رقیق‌سازی عصاره با آب مقطر، معرف فولین–سیوکالتو به آن اضافه گردید. پس از چهار دقیقه، سدیم کربنات (۷/۵ درصد) به مخلوط افزوده شد و پس از ۳۰ دقیقه انکوباسیون، جذب نوری در طول موج ۷۶۰ نانومتر قرائت شد. مقدار فنول کل براساس منحنی استاندارد

اسید گالیک و برحسب میلی‌گرم اسید گالیک در هر گرم وزن تازه اندازه‌گیری شد.

فلاونوئید کل

مقدار فلاونوئید به‌روش آلومینیوم کلرید سنجیده شد (Zhao et al., 2018). عصاره متانولی با محلول‌های آلومینیوم کلرید (۱۰ درصد)، پتاسیم استات (یک مولار) و آب مقطر مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی نگهداری شد. جذب محلول واکنش در طول موج ۴۱۵ نانومتر قرائت و مقدار فلاونوئید با استفاده از منحنی استاندارد کوئرستین، برحسب میکروگرم کوئرستین در گرم وزن تازه برگ محاسبه گردید.

درصد و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس

درصد اسانس

اندام‌های هوایی خشک‌شده در سایه، به‌روش تقطیر با آب توسط دستگاه کلونجر به مدت دو ساعت اسانس‌گیری شدند. اسانس به‌دست‌آمده توسط سدیم سولفات بدون آب، آب‌گیری شدند و درصد اسانس هر نمونه نسبت به وزن خشک گزارش گردید (Shahhoseini et al., 2024).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس

فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس از طریق آزمون مهار رادیکال آزاد DPPH (۲و۲- دی‌فنیل-۱- پیکریل‌هیدرازیل) ارزیابی شد (Wang et al., 1998). برای این منظور، به غلظت‌های مختلفی از اسانس، ۱/۵ میلی‌لیتر محلول DPPH (۰/۱ میلی‌مولار) اضافه شد. نمونه‌ها به همراه یک نمونه شاهد (حاوی آب مقطر به‌جای اسانس)، به مدت ۵۰ دقیقه در تاریکی نگهداری شدند. سپس جذب هر محلول در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت و درصد مهار رادیکال با استفاده از معادله ۱ محاسبه شد.

(۱)

درصد ممانعت = (جذب شاهد - جذب نمونه) / جذب شاهد)×۱۰۰

در نهایت، غلظتی از اسانس که قادر به مهار ۵۰ درصد از رادیکال‌های آزاد باشد (IC_{50})، از روی معادله رگرسیونی خطی نمودار غلظت-پاسخ، برحسب میکروگرم بر میلی‌لیتر محاسبه گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

آنالیز داده‌ها توسط نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ۲۱) انجام گرفت. مقایسه میانگین‌ها به‌روش آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد صورت پذیرفت و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج و بحث

اثر الیسیتورها بر صفات رشدی و فیزیولوژیکی عملکرد بیولوژیکی (زیست‌توده)

براساس نتایج تجزیه واریانس، محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک، متیل جاسمونات و همچنین اثرات متقابل آن‌ها به‌طور معنی‌داری وزن تر و خشک اندام‌های هوایی گیاه مریم‌گلی را تحت تأثیر قرار دادند. اسید سالیسیلیک، زیست‌توده گیاهان تیمارشده را به‌میزان معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش داد. متیل جاسمونات در غلظت پایین (۰/۲۵ میلی‌مولار) در بهبود وزن تر و خشک مؤثر بود، ولی در غلظت بالا (۰/۵ میلی‌مولار) کاهش رشد گیاهان تیمارشده مشاهده گردید. محلول‌پاشی توأم اسید سالیسیلیک و متیل جاسمونات، اثر قابل توجهی در افزایش زیست‌توده مریم‌گلی داشت، به‌طوری که بیشترین وزن تر (۴۹/۰۰ گرم) و وزن خشک (۲۱/۴۸ گرم) بوته در گیاهان تیمارشده با ۰/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک همراه با ۰/۲۵ میلی‌مولار متیل جاسمونات ثبت گردید (جدول ۱). این نتایج با مطالعات پیشین که نشان داده‌اند اسید سالیسیلیک و متیل جاسمونات در غلظت‌های متعادل می‌توانند پاسخ‌های دفاعی و رشد گیاه نسترن را همزمان تحریک کنند، هم‌خوانی دارد (Tafreshi et al., 2025). افزایش زیست‌توده گیاه در واکنش به اسید سالیسیلیک و متیل جاسمونات به تغییرات وضعیت هورمونی گیاه به‌ویژه افزایش اکسین و سیتوکینین نسبت داده شده است (Jeyasri et al., 2023). همچنین اسید سالیسیلیک، سنتز و تجمع انواع مختلف پروتئین مانند پروتئین کینازها را تحریک می‌کند که نقش مهمی در تنظیم تقسیم سلولی، تمایز و مورفوژنز دارند (Vinay et al., 2025). از سوی دیگر، متیل جاسمونات در غلظت‌های پایین از طریق تحریک سنتز پروتئین‌های مرتبط با رشد، زیست‌توده گیاه را افزایش می‌دهد (Wang et al., 2022). در پژوهش حاضر، در گیاهان تیمارشده با غلظت بالای متیل جاسمونات، کاهش معنی‌داری در وزن تر و خشک اندام هوایی مشاهده شد که توسط پسراکلو و همکاران (Pesaraklu et al., 2021) نیز گزارش شده است. این پدیده احتمالاً به‌دلیل فعال‌سازی بیش از حد مسیرهای دفاعی تحت تأثیر متیل جاسمونات و تولید مهارکننده‌های رشد مانند پروتئازها است که می‌تواند رشد گیاه مریم‌گلی را مهار کند (Pesaraklu et al., 2021). بااین‌وجود، واکنش‌های رشدی گیاهان به کاربرد هر یک از الیسیتورها بسته به غلظت، گونه گیاهی و مرحله رشد در زمان تیمار متفاوت است (Klimek-Szczykutowicz et al., 2022).

جدول ۱- اثر متقابل محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک × متیل جاسمونات بر زیست‌توده و کاروتنوئیدهای گیاه مریم‌گلی

Table 1- The interaction effect of foliar application of salicylic acid ×methyl jasmonate on the biomass and carotenoids of *S. officinalis*

اسید سالیسیلیک Salicylic acid (mM)	متیل جاسمونات Methyl jasmonate (mM)	وزن تر اندام هوایی بوته Plant aerial fresh weight (g per plant)	وزن خشک اندام هوایی بوته Plant aerial dry weight (g per plant)	کارتنوئیدها Carotenoids ($mg.g^{-1}$ FW)
0	0	28.00±1.00 de*	16.45±0.11 c	1.36±0.03 f
	0.25	31.33±1.53 d	18.69±0.54 b	2.05±0.04 b
	0.5	26.00±2.65 e	14.90±0.59 d	1.18±0.06 g
0.5	0	37.00±1.00 c	16.45±0.10 c	1.72±0.05 d
	0.25	49.00±1.00 a	21.478±1.33 a	1.36±0.04 f
	0.5	28.00±1.10 de	16.48±0.40 c	1.35±0.03 f
1	0	45.00±3.46 b	18.54±0.10 b	1.87±0.01 c
	0.25	42.00±1.50 b	17.95±0.46 b	2.34±0.03 a
	0.5	28.00±1.45 de	18.49±0.95 b	1.47±0.08 e

* در هر صفت و گروه مقایسه‌شده، تیمارهای با حروف یکسان اختلاف معنی‌داری بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

* Values followed by the same letter in each trait have no significant difference based on Duncan's multiple range test at 5% of probability level.

رنگیزه‌های فتوسنتزی

میانگین مربعات اسید سالیسیلیک و متیل جاسمونات بر میزان کلروفیل کل و کاروتنوئیدهای گیاه مریم‌گلی معنی‌دار شد، ولی اثر متقابل اسید سالیسیلیک و متیل جاسمونات تنها بر مقدار کاروتنوئیدها معنی‌دار بود. محلول‌پاشی با هر دو غلظت اسید سالیسیلیک (۰/۵ و ۱ میلی‌مولار) موجب افزایش معنی‌دار مقدار کلروفیل شد (شکل ۱-A). غلظت پایین متیل جاسمونات موجب افزایش معنی‌دار کلروفیل گردید و استفاده از آن در غلظت ۰/۵ میلی‌مولار مقدار کلروفیل را نسبت به گیاهان شاهد کاهش داد (شکل ۱-B). در پژوهش حاضر، استفاده از الیسیتورها اثر معنی‌داری بر افزایش مقدار کاروتنوئیدهای گیاه مریم‌گلی داشت. براساس نتایج حاصل از این پژوهش، بیشترین مقدار کاروتنوئیدها (۲/۳۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) در گیاهان تیمارشده با غلظت یک میلی‌مولار اسید سالیسیلیک همراه با متیل جاسمونات با غلظت ۰/۲۵ میلی‌مولار به دست آمد (جدول ۱).

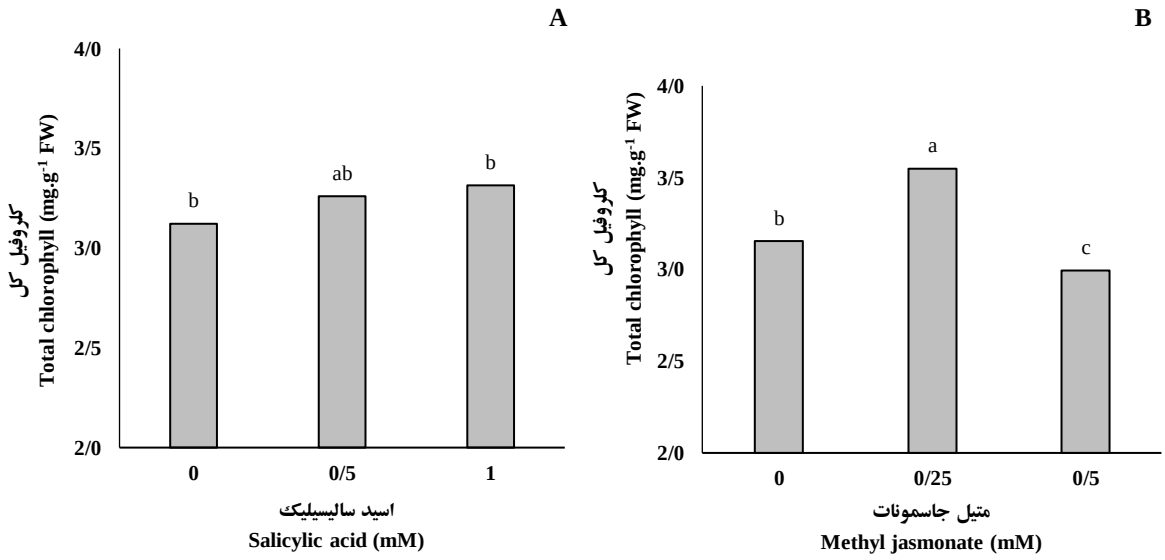
فتوسنتز از جمله مهم‌ترین واکنش‌های حیاتی در گیاه محسوب می‌شود که نقش تعیین‌کننده در عملکرد و همچنین خصوصیات کمّی و کیفی گیاه دارد. در کلروپلاست برگ‌ها، کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها مهم‌ترین اجزای سیستم فتوسنتزی گیاه را تشکیل می‌دهند (Vinay et al., 2025). براساس نتایج به‌دست‌آمده در این پژوهش، محلول‌پاشی گیاه مریم‌گلی با اسید سالیسیلیک و متیل جاسمونات موجب افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی گردید که همراه با افزایش وزن تر و خشک گیاهان تیمارشده بود. بررسی پژوهش‌های انجام‌شده نشان می‌دهد که اسید سالیسیلیک از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های کلیدی در سنتز کلروفیل مانند کلروفیل سنتاز موجب بهبود محتوای کلروفیل می‌شود (Samadi et al., 2016). متیل جاسمونات با تنظیم بیان ژن‌های مرتبط با سنتز کارتنوئیدها مانند PSY وLCY، نقش مؤثری در افزایش این ترکیبات دارد. بااین‌حال، غلظت‌های بالای متیل جاسمونات اثرات معکوسی بر شاخص‌های مورد مطالعه دارد، که به القای تنش اکسیداتیو و فعال‌سازی مسیرهای تجزیه کلروفیل و کارتنوئیدها نسبت داده شده است (Sohn et al., 2022). اگرچه اسید سالیسیلیک و متیل جاسمونات در غلظت‌های بهینه می‌توانند اثر هم‌افزایی داشته باشند و پاسخ‌های فیزیولوژیکی گیاه را به‌طور هم‌زمان بهبود بخشند، امّا در غلظت‌های بالا، اثرات آنتاگونیسم بین مسیرهای پیام‌رسانی اسید سالیسیلیک و متیل جاسمونات می‌تواند منجر به کاهش اثرات مثبت این هورمون‌ها شود (Mohi-Ud-Din et al., 2025). مطالعات نشان داده‌اند که اسید سالیسیلیک می‌تواند از طریق مهار فاکتور رونویسی MYC2 که در مسیر متیل جاسمونات نقش دارد، اثرات متیل جاسمونات را تعدیل کند (Medeiros et al., 2024). این پدیده می‌تواند توضیح‌دهنده کاهش اثرات مثبت اسید سالیسیلیک در حضور غلظت بالای متیل جاسمونات (۰/۵ میلی‌مولار) در پژوهش حاضر باشد.

اثر الیسیتورها بر سیستم دفاعی و متابولیت‌های ثانویه

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

نتایج تجزیه واریانس بیانگر اثر معنی‌دار محلول‌پاشی الیسیتورهای مورد مطالعه و اثرات متقابل آن‌ها بر فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز می‌باشد. اگرچه اثر اسید سالیسیلیک بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز معنی‌دار نبود، ولی اثر متیل جاسمونات و اثر متقابل اسید سالیسیلیک و متیل جاسمونات بر این آنزیم معنی‌دار شد. محلول‌پاشی گیاه مریم‌گلی با غلظت‌های مختلف الیسیتورها اثر

بارزی بر افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز داشت و بیشترین فعالیت این آنزیم (۲۰/۴۹ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) در استفاده ترکیبی اسید سالیسیلیک در غلظت ۰/۵ یا ۱ میلی‌مولار با ۰/۲۵ میلی‌مولار متیل جاسمونات حاصل شد. با وجود اینکه در واکنش به تیمارهای مورد مطالعه، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نیز افزایش یافت، ولی تفاوت معنی‌داری با شرایط بدون تیمار نداشت. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نیز به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر محلول‌پاشی الیسیتورها افزایش یافت. گیاهان تیمارشده با ۰/۲۵ میلی‌مولار متیل جاسمونات، تیمار ترکیبی (۰/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک و ۰/۲۵ میلی‌مولار متیل جاسمونات)، و یک میلی‌مولار اسید سالیسیلیک، همگی در یک گروه آماری قرار گرفته و بالاترین سطح فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را نشان دادند (جدول ۲). نتایج به‌دست‌آمده در این پژوهش نشان می‌دهد که الیسیتورهای شیمیایی استفاده‌شده قادر به تنظیم فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاه مریم‌گلی هستند. اسید سالیسیلیک از طریق فعال‌سازی مسیر NPR1-dependent مؤثر در القای مقاومت اکتسابی و متیل جاسمونات از طریق اثرگذاری بر بیان ژن‌های کدکننده آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، فعالیت آن‌ها را افزایش می‌دهند (Klimek-Szczykutowicz et al., 2022). نکته قابل توجه در نتایج حاصل‌شده در این مطالعه، اثرات منفی غلظت‌های بالای متیل جاسمونات بر فعالیت آنزیم‌های مورد مطالعه به‌ویژه آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز است. غلظت‌های بالای متیل جاسمونات ممکن است منجر به تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن شود که سبب تخریب آنزیم‌ها می‌گردد. از طرف دیگر، فعال شدن مسیرهای تجزیه پروتئین‌ها تحت تیمار غلظت‌های بالای متیل جاسمونات سبب کاهش فعالیت آنزیم‌های اندازه‌گیری‌شده می‌شود (Wang et al., 2022).



شکل ۱- اثر اسید سالیسیلیک (A) و متیل جاسمونات (B) بر مقدار کلروفیل کل گیاه مریم‌گلی

Figure 1- The effect of foliar application of salicylic acid (A) and methyl jasmonate (B) on total chlorophyll content of *S. officinalis* (DMRT, $p \leq 0.05$)

فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز و ترکیبات فنولی

تجزیه واریانس داده‌ها نشان‌دهنده اثرات معنی‌دار متیل جاسمونات و اسید سالیسیلیک بر فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز، مقدار فنول کل و فلاونوئید است، ولی اثر متقابل این الیسیتورها تنها بر مقدار فلاونوئید معنی‌دار شد. محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک در بهبود فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز معنی‌دار بود که فعالیت آن را از ۱/۶۵ نانومول بر میلی‌گرم پروتئین در شاهد به ۱/۹۷ نانومول بر میلی‌گرم پروتئین در تیمار یک میلی‌مولار سالیسیلیک افزایش داد (شکل ۲-A). متیل جاسمونات در غلظت ۰/۲۵ میلی‌مولار، فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز را به‌میزان ۲۵/۲۸ درصد افزایش داد، بااین‌وجود غلظت ۰/۵ میلی‌مولار سبب کاهش معنی‌دار فعالیت این آنزیم گردید (شکل ۲-B). مقدار فنول کل در برگ‌های گیاه مریم‌گلی تحت تأثیر تیمارهای اسید سالیسیلیک (شکل ۳-A) و متیل جاسمونات (شکل ۳-B) تغییر معنی‌داری یافت. در هر یک از تیمارها، بیشترین مقدار فنول کل در غلظت یک میلی‌مولار اسید سالیسیلیک (۱/۶۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و ۰/۲۵ میلی‌مولار متیل جاسمونات (۱/۶۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) ثبت شد. محلول‌پاشی با ترکیبات مورد مطالعه، اثر معنی‌داری بر افزایش مقدار فلاونوئید کل برگ‌های

مریم‌گلی داشت و بیشترین مقدار آن در گیاهان تیمارشده با ۰/۵ یا ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک همراه با ۰/۲۵ میلی‌مولار متیل جاسمونات حاصل شد (جدول ۳).

فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز، آنزیم اصلی در مسیر فنیل پروپانوئید است که منجر به بیوسنتز ترکیبات مختلف فنولی مانند فلاونوئیدها از اسید آمینه فنیل آلانین می‌شود و افزایش فعالیت فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز هم‌زمان با تجمع ترکیبات فنولی است. مطالعات اسکرپنیک و همکاران (Skrypnik et al., 2022) نشان داده‌اند که اسید سالیسیلیک می‌تواند بیان ژن تنظیم‌کننده فعالیت فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز را تا چندین برابر افزایش دهد. همچنین گرزگورچیک-کارولاک و همکاران (Grzegorczyk-Karolak et al., 2024) نقش کلیدی متیل جاسمونات را در فعال‌سازی فنیل پروپانوئید را گزارش کرده‌اند. در پژوهش حاضر، هم‌گام با افزایش فعالیت آنزیم فنیل¬آلانین¬آمونیالیاز، محتوای فنول کل نیز در تیمارهای مشابه به‌طور معنی‌داری افزایش یافت.

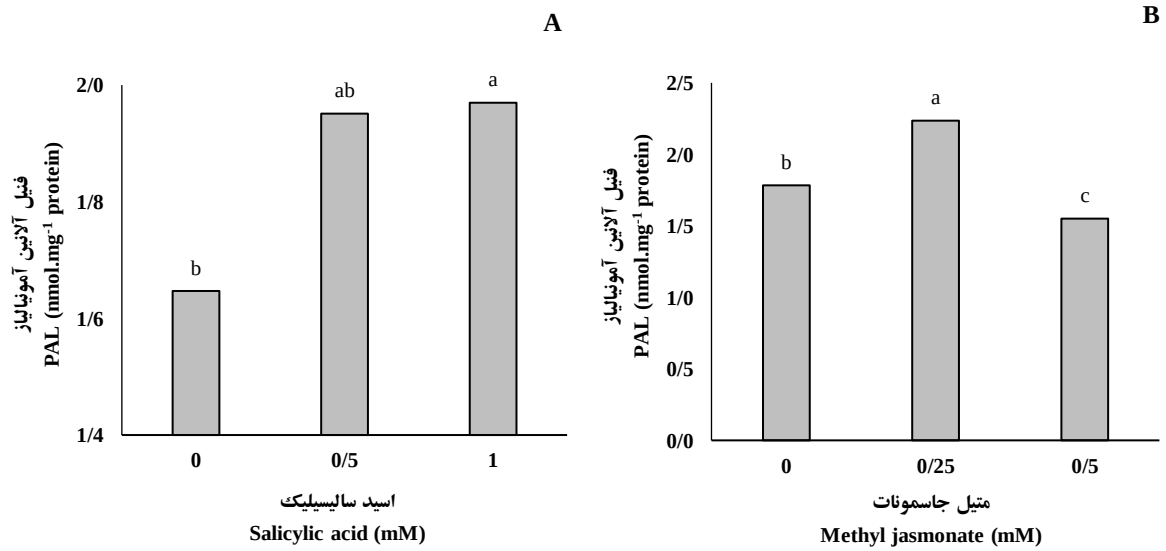
جدول ۲- اثر متقابل محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک × متیل جاسمونات بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه مریم‌گلی

Table 2- The interaction effect of foliar application of salicylic acid ×methyl jasmonate on antioxidant enzymes activity of *S. officinalis*

اسید سالیسیلیک Salicylic acid (mM)	متیل جاسمونات Methyl jasmonate (mM)	پراکسیداز Peroxidase (U.mg^{-1} protein)	آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase (U.mg^{-1} protein)	سوپراکسید دیسموتاز Superoxide dismutase (U.mg^{-1} protein)
0	0	13.93±0.24 d*	6.52±0.02 ab	1.71±0.00 bc
	0.25	16.97±0.41 bc	6.96±0.10 a	1.95±0.02 a
	0.5	14.87±1.81 cd	6.38±0.21 b	1.26±0.07 e
0.5	0	15.87±0.34 cd	6.67±0.02 ab	1.77±0.01 b
	0.25	20.49±0.30 a	6.95±0.45 a	1.92±0.02 a
	0.5	15.93±2.05 cd	6.18±0.59 b	1.58±0.08 d
1	0	18.66±0.42 ab	6.94±0.02 a	1.89±0.03 a
	0.25	20.26±2.51 a	6.48±0.05 ab	1.64±0.03 cd
	0.5	14.40±1.37 d	6.40±0.12 b	1.70±0.15 bc

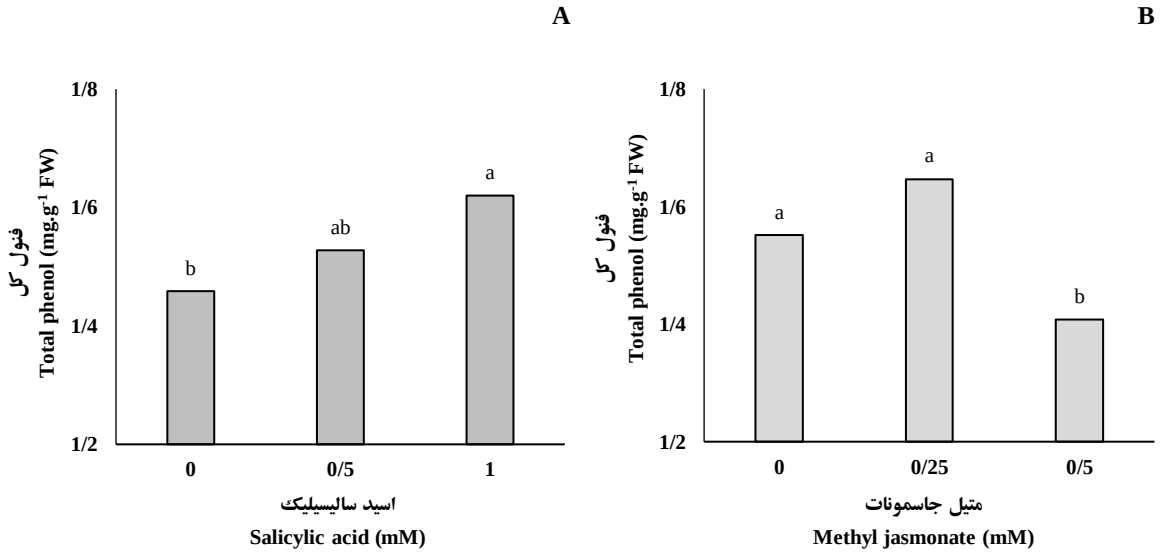
* در هر صفت و گروه مقایسه‌شده، تیمارهای با حروف یکسان اختلاف معنی‌داری بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

* Values followed by the same letter in each trait have no significant difference based on Duncan's multiple range test at 5% of probability level.



شکل ۲- اثر اسید سالیسیلیک (A) و متیل جاسمونات (B) بر فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز گیاه مریم‌گلی

Figure 2- The effect of foliar application of salicylic acid (A) and methyl jasmonate (B) on PAL enzyme activity of *S. officinalis* (DMRT, $p \leq 0.05$)



شکل ۳- اثر اسید سالیسیلیک (A) و متیل جاسمونات (B) بر مقدار فنول کل گیاه مریم‌گلی

Figure 3- The effect of foliar application of salicylic acid (A) and methyl jasmonate (B) on total phenol content of *S. officinalis* (DMRT, $p \leq 0.05$)

همبستگی مثبت بین فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز و تجمع فنول‌ها توسط مطالعات متعددی از جمله صمدی و همکاران (Samadi et al., 2016) و وینی و همکاران (Vinay et al., 2025) نیز گزارش شده است. در مورد فلاونوئیدها، الگوی مشابهی مشاهده شد، با این تفاوت که بیشترین مقدار آن در تیمار ترکیبی اسید سالیسیلیک و متیل جاسمونات ثبت گردید. این نتیجه با یافته‌های تفرشی و همکاران (Tafreshi et al., 2025) که هم‌افزایی این دو ترکیب را در افزایش فلاونوئیدها گزارش کرده‌اند، مطابقت دارد. پژوهش‌های وینی و همکاران (Vinay et al., 2025)، سازوکار این اثر را به افزایش بیان ژن‌های کلیدی مسیر بیوسنتز فلاونوئیدها مانند چالکون سنتاز و فلاون سنتاز نسبت داده‌اند. بررسی مطالعه حاضر و سایر پژوهش‌های گزارش‌شده بیانگر تفاوت در تأثیر غلظت‌های مختلف الیسیتورهای استفاده‌شده است. باید در نظر داشت که تعیین غلظت بهینه برای محلول‌پاشی بسته به گونه گیاهی، شرایط محیطی و روش استفاده متفاوت می‌باشد (Jeyasri et al., 2023).

جدول ۳- اثر متقابل محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک × متیل جاسمونات بر مقدار فلاونوئید، درصد اسانس و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه مریم‌گلی

Table 3- The interaction effect of foliar application of salicylic acid ×methyl jasmonate on flavonoid content, essential oil percent and antioxidant activity of *S. officinalis*

اسید سالیسیلیک Salicylic acid (mM)	متیل جاسمونات Methyl jasmonate (mM)	فلاونوئید Flavonoids (µg.g^{-1} FW)	درصد اسانس Essential oil (%)	فعالیت آنتی‌اکسیدانی Antioxidant activity (µg.mL^{-1})
0	0	2.21±0.01 ef*	0.59±0.01 cd	163.30±8.95 b
	0.25	2.49±0.19 cd	0.64±0.01 bc	134.05±6.65 c
	0.5	2.21±0.08 ef	0.56±0.03 d	183.92±9.36 a
0.5	0	2.40±0.06 de	0.62±0.02 cd	121.38±1.23 c
	0.25	2.74±0.04 ab	0.82±0.05 a	94.69±4.07 d
	0.5	2.18±0.06 f	0.58±0.01 cd	190.56±1.25 a
1	0	2.61±0.25 bc	0.70±0.05 b	166.44±16.48 b
	0.25	2.86±0.03 a	0.81±0.06 a	102.05±3.35 d
	0.5	2.21±0.01 ef	0.60±0.04 cd	191.66±7.61 a

* در هر صفت و گروه مقایسه‌شده، تیمارهای با حروف یکسان اختلاف معنی‌داری بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

* Values followed by the same letter in each trait have no significant difference based on Duncan's multiple range test at 5% of probability level.

اثر الیسیتورها بر کمیت و کیفیت اسانس

درصد اسانس

نتایج تجزیه واریانس نشانگر اثر معنی‌دار اسید سالیسیلیک، متیل جاسمونات و اثرات متقابل آن‌ها بر درصد اسانس گیاه مریم‌گلی بود. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که کاربرد همزمان اسید سالیسیلیک و متیل جاسمونات در غلظت‌های بهینه می‌تواند به‌طور معنی‌داری درصد اسانس گیاه دارویی مریم‌گلی را افزایش دهد. براساس نتایج جدول ۳، میزان اسانس در تیمار ترکیبی ۰/۵ یا ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک همراه با ۰/۲۵ میلی‌مولار متیل جاسمونات نسبت به شاهد افزایش حدود ۳۹ درصدی را نشان داد. این افزایش محتوای اسانس را می‌توان به توانایی اسید سالیسیلیک و متیل جاسمونات در فعال‌سازی مسیرهای بیوسنتز ترپنوئیدها نسبت داد. مطالعات مدیروس و همکاران (Medeiros et al., 2024) نشان دادند که این ترکیبات می‌توانند بیان ژن‌های ترپن سنتازها را که آنزیم‌های کلیدی در تولید پیش‌سازهای اسانس هستند، به‌طور هماهنگ تنظیم کنند. اثر هم‌افزایی ترکیب اسید سالیسیلیک و متیل جاسمونات در غلظت‌های بهینه در افزایش مقدار اسانس گیاه مریم‌گلی می‌تواند ناشی از فعال‌سازی همزمان مسیرهای پیام‌رسانی مستقل توسط این دو ترکیب باشد. اسید سالیسیلیک و متیل جاسمونات می‌توانند با کاهش تنش اکسیداتیو، انرژی سلول را به سمت تولید متابولیت‌های ثانویه مانند اسانس هدایت کنند (Tafreshi et al., 2025; Kandoudi et al., 2021). در مقابل، کاهش اثرات مثبت متیل جاسمونات در غلظت بالا (۰/۵ میلی‌مولار) بر مقدار اسانس با یافته‌های سون و همکاران (Sohn et al., 2022) هم‌خوانی دارد که گزارش کردند که غلظت‌های بالای متیل جاسمونات ممکن است منجر به فعال‌سازی بیش از حد مسیرهای دفاعی و در نتیجه تخصیص منابع به فرآیندهای غیرضروری شود.

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی اسانس

اثرات محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک و متیل جاسمونات بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس مریم‌گلی از نظر قدرت مهار رادیکال‌های DPPH معنی‌دار بود، همچنین اثرات متقابل آن‌ها برای این صفت معنی‌دار شد.

صفت IC_{50} غلظتی از نمونه است که برای مهار ۵۰ درصدی رادیکال‌ها لازم است. به این ترتیب، هرچه یک نمونه قوی‌تر باشد، به غلظت کمتری برای رسیدن به این هدف نیاز دارد. بنابراین، کاهش عدد IC_{50} به‌معنای افزایش قدرت آنتی‌اکسیدانی است. بر این اساس، غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک همراه با غلظت ۰/۲۵ میلی‌مولار متیل جاسمونات در بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی اسانس گیاه مریم‌گلی مؤثر بودند. براساس نتایج به‌دست‌آمده در این پژوهش، در تیمارهای ترکیبی ۰/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک با ۰/۲۵ میلی‌مولار متیل جاسمونات (۹۴/۶۹ میکروگرم در میلی‌لیتر اسانس) و یک میلی‌مولار اسید سالیسیلیک با ۰/۲۵ میلی‌مولار متیل جاسمونات (۱۰۲/۰۵ میکروگرم در میلی‌لیتر اسانس) بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی ثبت گردید (جدول ۳).

ترکیبات ترپنوئیدی اسانس با فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها در ارتباط است که عمدتاً به‌دلیل قابلیت اکسایش و احیاء، فعالیت جاروب‌کنندگی رادیکال‌های آزاد، ظرفیت خنثی‌کنندگی اکسیژن فعال و فعالیت کلات‌کنندگی فلزات است (Es-Sbihi et al., 2020). در پژوهش حاضر، کاربرد ترکیبی اسید سالیسیلیک (۰/۵ میلی‌مولار) و متیل جاسمونات (۰/۲۵ میلی‌مولار)، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی اسانس را به‌طور قابل توجهی بهبود بخشید، به‌طوری که مقدار IC_{50} تا ۴۲ درصد نسبت به شاهد کاهش یافت (از ۱۶۳/۳۰ به ۹۴/۶۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر). اسید سالیسیلیک و متیل جاسمونات از طریق سازوکارهای مختلفی خواص آنتی‌اکسیدانی گیاهان تیمارشده را تحت تأثیر قرار می‌دهد. این محرک‌های گیاهی از طریق القای بیان ژن‌های کلیدی آنزیم‌های ترپن سنتاز (Medeiros et al., 2024) و فنیل آلانین آمونیالیاز (Skrypnik et al., 2022)، تولید متابولیت‌های ثانویه با خاصیت آنتی‌اکسیدانی را افزایش می‌دهند. در برخی از گونه‌های گیاهی، بیان این ژن‌ها در تیمارهای ترکیبی اسید سالیسیلیک و متیل جاسمونات تا سه برابر نسبت به شاهد افزایش یافته است (Jeyasri et al., 2023). بررسی‌ها نشان می‌دهد که این ترکیبات می‌توانند از طریق تغییر در الگوی متیلاسیون DNA نواحی پروموتر ژن‌های مرتبط در مسیر بیوسنتز ترکیبات ترپنوئیدی، بیان آن‌ها را به مدت طولانی‌تری حفظ کنند (Tafreshi et al., 2025; Bozaba & Kuru, 2024). کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در غلظت‌های بالای متیل جاسمونات به فعال‌سازی بیش از حد مسیرهای تجزیه ترکیبات فنولی و ایجاد عدم تعادل در سیستم ردوکس سلولی نسبت داده شده است (Wang et al., 2022).

نتیجه‌گیری

این مطالعه نشان داد که کاربرد ترکیبی اسید سالیسیلیک و متیل جاسمونات در بستر کشت هیدروپونیک، ابزاری قدرتمند برای مدیریت رشد و تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاه مریم‌گلی است. یافته کلیدی این پژوهش، شناسایی یک تیمار بهینه (۱–۰/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک به همراه ۰/۲۵ میلی‌مولار متیل جاسمونات) بود که توانست به‌طور هم‌افزا موجب افزایش زیست‌توده، درصد اسانس و فعالیت آنتی‌اکسیدانی شود، درحالی‌که غلظت‌های بالاتر متیل

جاسمونات به‌تنهایی، رشد را مهار کرد. پیامدهای این پژوهش حائز اهمیت است، زیرا نشان می‌دهد که می‌توان با تنظیم دقیق غلظت الیسیتورها، موازنه متابولیکی بین رشد و تولید ترکیبات دفاعی را به‌نفع اهداف کشاورزی و دارویی مدیریت کرد. این رویکرد، پتانسیل بالایی برای تولید انبوه و استانداردسازی گیاهان دارویی با کیفیت بالا در سیستم‌های کشت کنترل‌شده دارد. تحقیقات آینده باید بر روی شناسایی سازوکارهای مولکولی پشت این اثرات هم‌افزا و همچنین ارزیابی این تیمارها بر روی سایر گونه‌های گیاهی تمرکز کند.

References

1. Aryal, S., Baniya, M. K., Danekhu, K., Kunwar, P., Gurung, R., & Koirala, N. (2019). Total phenolic content, flavonoid content and antioxidant potential of wild vegetables from western Nepal. *Plants (Basel), 8*(4), 96. https://doi.org/10.3390/plants8040096
2. Atherton, H. R., & Li, P. (2023). Hydroponic cultivation of medicinal plants—Plant organs and hydroponic systems: Techniques and trends. *Horticulturae, 9*(3), 349. https://doi.org/10.3390/horticulturae9030349
3. Bashabsheh, K., Al-Tabbal, J., Qrunfleh, I., Haddad, M., & Al-Einein, S. A. (2021). Production of sage (*Salvia officinalis* L.) in a hydroponics system using brackish water at low cost. *Irrigation and Drainage, 70*(5), 1172–1182. https://doi.org/10.1002/ird.2595
4. Beaudoin-Eagan, L. D., & Thorpe, T. A. (1985). Tyrosine and phenylalanine ammonia-lyase activities during shoot initiation in tobacco callus cultures. *Plant Physiology, 78*(3), 438–441. https://doi.org/10.1104/pp.78.3.438
5. Bozaba, T. O., & Kuru, İ. S. (2024). The effect of the combined application of elicitors to *Salvia virgata* Jacq. under salinity stress on physiological and antioxidant defense. *BMC Plant Biology, 24*, 788. https://doi.org/10.1186/s12870-024-05443-4
6. Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry, 72*, 248–254. https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3
7. Chance, B., & Maehly, A. C. (1955). Assay of catalases and peroxidases. In S. P. Colowick & N. O. Kaplan (Eds.), Methods in Enzymology. Vol. 2, pp. 764–775. Academic Press.
8. Es-Sbihi, F., Hazzoumi, Z., & Joutei, K. A. (2020). Effect of salicylic acid foliar application on growth, glandular hairs and essential oil yield in *Salvia officinalis* L. grown under zinc stress. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture, 7*(1), 1–11. https://doi.org/10.1186/s40538-020-00192-6
9. Grzegorczyk-Karolak, I., Krzemińska, M., Grąbkowska, R., Gomulski, J., Żekanowski, C., & Gaweda-Walerych, K. (2024). Accumulation of polyphenols and associated gene expression in hairy roots of *Salvia viridis* exposed to methyl jasmonate. *International Journal of Molecular Sciences, 25*(2), 764. https://doi.org/10.3390/ijms25020764
10. Hussain, M., Abbas, Y., Nazli, N., Fatima, S., Drouet, S., & Hano, C. (2022). Root cultures, a boon for the production of valuable compounds: A comparative review. *Plants, 11*(3), 439. https://doi.org/10.3390/plants11030439
11. Jeyasri, R., Muthuramalingam, P., Karthick, K., Shin, H., Choi, S. H., & Ramesh, M. (2023). Methyl jasmonate and salicylic acid as powerful elicitors for enhancing the production of secondary metabolites in medicinal plants: An updated review. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 153*(3), 447. https://doi.org/10.1007/s11240-023-02485-8
12. Kandoudi, W., Radácsi, P., Gosztola, B., & Zámboriné Németh, É. (2021). Elicitation of medicinal plants *in vivo*—Is it a realistic tool? The effect of methyl jasmonate and salicylic acid on Lamiaceae species. *Horticulturae, 8*(1), 5. https://doi.org/10.3390/horticulturae8010005
13. Karalija, E., Dahija, S., Tarkowski, P., & Zeljković, S. Ć. (2022). Influence of climate-related environmental stresses on economically important essential oils of Mediterranean *Salvia* sp. *Frontiers in Plant Science, 13*, 864807. https://doi.org/10.3389/fpls.2022.864807
14. Khan, M. R., Fatma, M., Per, T. S., Anjum, N., & Khan, N. (2015). Salicylic acid-induced abiotic stress tolerance and underlying mechanisms in plants. *Frontiers in Plant Science, 6*, 462. https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00462
15. Klimek-Szczykutowicz, M., Dziurka, M., & Blažević, I. (2022). Impacts of elicitors on metabolite production and on antioxidant potential and tyrosinase inhibition in watercress microshoot cultures. *Applied Microbiology and Biotechnology, 106*, 619–633. https://doi.org/10.1007/s00253-021-11743-8
16. Koubaa, F. G., Chaâbane, M., & Turki, M. (2021). Anti-oxidant and hepatoprotective effects of *Salvia officinalis* essential oil against vanadium-induced oxidative stress and histological changes in the rat liver. *Environmental Science and Pollution Research, 28*(9), 11001–11015. https://doi.org/10.1007/s11356-020-11303-z
17. Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology, 148*, 350–382. https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1
18. Medeiros, A. P. R., Leite, J. J. F., De Assis, R. M. A., Rocha, J. P. M., Bertolucci, S. K. V., & Pereira Pinto, J. E. B. (2024). Application of natural elicitors to promote growth, photosynthetic pigments, and the content and

composition of essential oil in *Melissa officinalis* L. *Industrial Crops and Products*, *208*, 117885. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2023.117885
19. Mehdizadeh, L., & Moghaddam, M. (2023). Hydroponic system for cultivation of medicinal plants. In N. S. Kumar & R. Singh (Eds.). Biosynthesis of Bioactive Compounds in Medicinal and Aromatic Plants (pp. 1–25). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-031-35221-8_10
20. Mohi-Ud-Din, M., Tahery, M. H., Nazran, A., Talukder, D., Hasan, M. M., Al-Meraj, S. M. Z., & Ahmed, S. F. (2025). Synergistic effects of methyl jasmonate and salicylic acid enhances photosynthetic efficiency in drought-stressed French beans. *South African Journal of Botany*, *177*, 630–642. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2024.12.037
21. 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
22. Pesaraklu, A., Radjabian, T., & Salami, S. A. (2021). Methyl jasmonate and Ag+ as effective elicitors for enhancement of phenolic acids contents in *Salvia officinalis* and *Salvia verticillata*, as two traditional medicinal plants. *South African Journal of Botany*, *141*, 105–115. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.04.032
23. Shahhoseini, R., Hossaini, S. M., & Nikjouyan, M. J. (2024). Investigation of the growth and phytochemical variations for different Salvia species in terms of their transfer and adaptation in Iran. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, *38*, 100526. https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2023.100526
24. Sairam, R. K., Deshmukh, P. S., & Saxena, D. C. (1998). Role of antioxidant systems in wheat genotypes tolerance to water stress. *Biologia Plantarum*, *41*(3), 387–394. https://doi.org/10.1023/A:1001898310321
25. Samadi, S., Ghasemnezhad, A., Alizadeh, M., & Alami, M. (2016). Influence of elicitors on photosynthesis pigments, caffeic acid, chlorogenic acid and proline content of *Cynara scolymus* callus. *Iranian Journal of Horticultural Science*, *47*(3), 435–443. (In Persian). https://doi.org/10.22059/ijhs.2016.59806
26. Skrypnik, L., Golovin, A., & Savina, T. (2022). Effect of salicylic acid on phenolic compounds, antioxidant and antihyperglycemic activity of Lamiaceae plants grown in a temperate climate. *Frontiers in Bioscience (Elite Edition)*, *14*(1), 3. https://doi.org/10.31083/j.fbe1401003
27. Sohn, S., Pandian, S., Rakkammal, K., Largia, M. J. V., Thamilarasan, S., & Balaji, S. (2022). Jasmonates in plant growth, development, and elicitation of secondary metabolites: An updated overview. *Frontiers in Plant Science*, *13*, 942789. https://doi.org/10.3389/fpls.2022.942789
28. Tafreshi, Y. M., Eghlima, G., & Hatami, M. (2025). Exploring the potential impact of salicylic acid and jasmonic acid in promoting seed oil content, vitamin C and antioxidant activity in rosehip (*Rosa canina* L.). *BMC Plant Biology*, *25*, 249. https://doi.org/10.1186/s12870-025-06251-0
29. Vinay, C. M., Shetty, D. N., Sanjay, K. U., Venkatasai, N. N., & Rai, P. S. (2025). Impact of salicylic acid elicitation on the growth, photosynthesis, and metabolites of *Bacopa monnieri* (L.) Pennell growing in a hydroponic control system. *Scientia Horticulturae*, *342*, 114056. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2025.114056
30. Wang, C. H., Zheng, L. P., Tian, H., & Wang, J. W. (2016). Synergistic effects of ultraviolet-B and methyl jasmonate on tanshinone biosynthesis in *Salvia miltiorrhiza* hairy roots. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, *159*, 93–100. https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2016.01.012
31. Wang, C., Zhang, J., Lv, J., Li, J., Gao, Y., Patience, B. E., Niu, T., Yu, J., & Xie, J. (2022). Effect of methyl jasmonate treatment on primary and secondary metabolites and antioxidant capacity of the substrate and hydroponically grown Chinese chives. *Frontiers in Nutrition*, *9*, 859035. https://doi.org/10.3389/fnut.2022.859035
32. Wang, M., Li, J., Rangarajan, M., Shao, Y., Lavoie, E. J., & Huang, C. T. H. (1998). Antioxidative phenolic compounds from sage (*Salvia officinalis*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *46*(12), 4869–4873.
33. Zhao, L., Liu, W., Xiong, S., Tang, J., Lou, Z., Xie, M., Xia, B., Lin, L., & Liao, D. (2018). Determination of total flavonoids contents and antioxidant activity of *Ginkgo biloba* leaf by near-infrared reflectance method. *International Journal of Analytical Chemistry*, *2018*, 8195784. https://doi.org/10.1155/2018/8195784

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

Research Article
Vol. 40, No. 3, Fall 2026, p. 467-480

Expression Patterns of *OeFAD7* and *OeFAD3* Genes during Fruit Development of Selected Iranian and International Olive (*Olea europaea* L.) Cultivars

F. Razeghi-Jahromi[1], A. Zarei[1*], F. Parvini[2]

1- Department of Plant Production and Genetic (Biotechnology), Faculty of Agriculture, Jahrom University, Jahrom, Iran
2- Department of Biology, Faculty of Basic Science, Semnan University, Semnan, Iran
(*- Corresponding author's Email: zarei@jahromu.ac.ir)

Received: 03 August 2025
Revised: 07 October 2025
Accepted: 18 November 2025
Available Online: 18 November 2025

How to cite this article:
Razeghi-Jahromi, F., Zarei, A., & Parvini, F. (2026). Expression patterns of *OeFAD7* and *OeFAD3* genes during fruit development of selected Iranian and international olive (*Olea europaea* L.) cultivars. *Journal of Horticultural Science*, *40*(3), 467-480. (In Persian). https://doi.org/10.22067/jhs.2025.94744.1451

Introduction

Olive (*Olea europaea L.*) is a fruit-bearing tree of global significance due to the high quantity and quality of oil produced from its fruits. Fatty acid desaturase (FAD) genes are responsible for catalyzing the conversion of linoleic acid to α-linolenic acid. In olives, the FAD7 and FAD3 genes encode omega-3 fatty acid desaturases that catalyze the conversion of linoleic acid (omega-6) to α-linolenic acid (omega-3), occurring respectively in plastids and the endoplasmic reticulum. In olive fruit, oil accumulates in two distinct tissues: the mesocarp, which contains the highest concentration of oil, and the seed, which is enclosed by a hard endocarp. Due to the significance of the mesocarp for oil extraction in olives, most previous research has focused on oil biosynthesis within the fruit's mesocarp tissue, while the biosynthetic process in the seed has been comparatively less studied.

Materials and Methods

This study investigated the expression patterns of *OeFAD7* and *OeFAD3* genes during different fruit ripening stages in two tissues, mesocarp and seed, in four olive cultivars: two native (‘Mari’ and ‘Shengeh’) and two imported (‘Arbequina’ and ‘Koroneiki’). Total RNA was extracted from both seed and mesocarp tissues of the cultivars at five developmental time points: 64, 90, 120, 150, and 180 days after full bloom (DAFB). Subsequently, cDNA was synthesized and gene expression was analyzed using specific primers for *OeFAD7-1* and *OeFAD3A*. The *OeQUB2* gene was employed as a reference for evaluating relative expression levels. Each experimental sample was evaluated in triplicate. Data analysis was performed using SAS software, and mean values were compared using Tukey's test.

Results and Discussion

Transcripts of both *OeFAD3* and *OeFAD7* genes were consistently detected in the two examined tissues across all sampling times and in all olive cultivars, indicating stable, though quantitatively variable, patterns of gene expression. Results revealed significant differences in gene expression across tissues, ripening stages, and among cultivars. While *OeFAD7* exhibited higher expression in mesocarp tissue compared to seeds, *OeFAD3* was more strongly expressed in seeds than in mesocarp. On the other hand, the findings of this study revealed that the expression level of the *OeFAD3* gene in the seed of the fruit was significantly higher than in the mesocarp. Moreover, in most sampling stages, the expression of this gene in the seed exceeded that of the *OeFAD7* gene in the same tissue. Previous studies on the expression of this gene in various olive tissues also

Authors retain the copyright. This is an open access article distributed under Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0).
https://doi.org/10.22067/jhs.2025.94744.1451

indicated that the *OeFAD3A* isoform exhibited the highest expression in the seed and young olive leaves, while its transcripts were extremely low and nearly undetectable in the fruit mesocarp. Expression of *OeFAD7* in the mesocarp showed a distinct upregulation at a specific growth stage, occurring either at 90 or 120 DAFB depending on the cultivar. The 'Koroneiki' cultivar demonstrated the highest transcript abundance for both genes and displayed a relatively distinct expression profile during fruit ripening compared to the other cultivars. Furthermore, the comparison of the expression levels of oleate desaturase genes in this study aligns with previous research findings regarding the fatty acid composition of the studied cultivars. In general, the native cultivars showed lower expression levels of the target genes compared to the imported ones, although the 'Mari' cultivar exhibited higher gene expression than 'Shengeh' in most developmental stages. Based on these findings, it can be proposed that *OeFAD7* plays a more prominent role in the conversion of linoleic acid to α-linolenic acid in the mesocarp, while *OeFAD3* is more pivotal in α-linolenic acid biosynthesis within the seed.

Conclusion

The data generated in this study provide valuable insights about tissue specific expression of oleate desaturases in olive trees. In conclusion, the distinct spatiotemporal expression profiles of FAD7 and FAD3 during olive fruit development underscore their pivotal roles in α-linolenic acid biosynthesis and identify them as valuable targets for breeding and biotechnological strategies aimed at enhancing olive oil composition and quality. Based on these findings, it can be concluded that the *OeFAD7* gene plays a critical role in the fatty acid desaturation process within the mesocarp tissue of olive fruit, whereas the *OeFAD3* gene has greater significance in this process within the seed. Overall, the data from this study highlight the substantial impact of these genes on linoleic acid degradation in olive oil, thereby enhancing its quality index in terms of the ratio of oleic acid to linoleic and linolenic acids.

Keyword: Developmental stages, Mesocarp, Oleate desaturase, Olive oil, Olive seed

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

مقاله پژوهشی

جلد ۴۰، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۵، ص. ۴۸۰-۴۶۷

مطالعه الگوی بیان ژن‌های *OeFAD7* و *OeFAD3* طی مراحل رشدی میوه برخی ارقام زیتون‌های (*Olea europaea* L.) ایرانی و خارجی

فاطمه رازقی جهرمی[۱]- عبدالکریم زارعی[۱*]- فرشید پروینی[۲]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۴/۱۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۸/۲۷

چکیده

میوه زیتون (*Olea europaea* L.) به‌خاطر میزان و کیفیت بالای روغن از اهمیت بالایی در بین محصولات باغی برخوردار است. میزان و کیفیت روغن بین ارقام مختلف زیتون متفاوت می‌باشد و این تفاوت تا حدودی به زمینه ژنتیکی و بیان متفاوت ژن‌های بیوسنتزی اسید چرب مربوط می‌باشد. در این پژوهش، الگوی بیان ژن‌های غیراشباع‌کننده اسید چرب *OeFAD7* و *OeFAD3* طی مراحل مختلف رسیدن میوه در دو بافت مزوکارپ و دانه چهار رقم زیتون شامل دو رقم بومی 'ماری' و 'شنگه' و دو رقم وارداتی 'آربکین' و 'کرونیکی' مورد مطالعه قرار گرفت. به این منظور، استخراج RNA کل از هر دو بافت دانه و مزوکارپ ارقام زیتون مورد بررسی در زمان‌های ۶۴، ۹۰، ۱۲۰، ۱۵۰ و ۱۸۰ روز پس از تمام‌گل انجام گرفت و سپس cDNA سنتز شد و با استفاده از آغازگرهای اختصاصی مربوط به ژن‌های *OeFAD7-1* و *OeFAD3A* بیان این دو ژن در چهار رقم ذکرشده مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بیانگر تفاوت معنی‌دار بیان این ژن‌ها در بافت‌های مختلف، طی مراحل رسیدن میوه و بین ارقام مورد مطالعه بود. هرچند میزان بیان ژن *OeFAD7* در بافت مزوکارپ میوه ارقام زیتون بسیار بیشتر از بافت دانه بود، ولی بیان ژن *OeFAD3* در بافت دانه نسبت به مزوکارپ میوه بالاتر بود و حتی بیان این ژن در دانه در اکثر مراحل نمونه‌گیری بیشتر از بیان ژن *OeFAD7* در دانه بود. نتایج نشان داد که ژن *OeFAD7* در مزوکارپ میوه تمام ارقام بررسی‌شده یک مرحله افزایش بیان را در طی رشد نشان داد که بسته به رقم این افزایش در مراحل مختلفی (۹۰ یا ۱۲۰ روز پس از تمام‌گل) ثبت گردید. رقم 'کرونیکی' نسبت به دیگر ارقام، رونوشت‌های بیشتری از هر دوی این ژن‌ها دارا بود و الگوی نسبتاً متفاوتی نسبت به بقیه ارقام مورد مطالعه طی رسیدن میوه از خود نشان داد. به‌طورکلی بیان این ژن‌ها در ارقام بومی کمتر از ارقام وارداتی بود و از طرف دیگر، در بین ارقام ایرانی میزان بیان این ژن‌ها در اکثر مراحل رشدی در رقم 'ماری' بیشتر از 'شنگه' بود. براساس نتایج این پژوهش می‌توان پیشنهاد داد که ژن *OeFAD7* اهمیت بیشتری در تبدیل اسید لینولئیک به اسید آلفالینولنیک در مزوکارپ میوه زیتون دارا می‌باشد، درحالی‌که ژن *OeFAD3* نقش مهم‌تری در تولید اسید آلفالینولنیک در دانه میوه ایفا می‌کند. اطلاعات حاصل‌شده در این تحقیق می‌تواند در مطالعات آتی با هدف بهبود کیفی روغن زیتون مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: اولئات دساچوراز، دانه زیتون، روغن زیتون، ، مراحل نموی، مزوکارپ

مقدمه

درخت زیتون (*Olea europaea* L.) از زمان‌های دور توسط بشر مورد کشت‌وکار قرار گرفته است و میوه آن، به‌خاطر محتوای روغن باکیفیت، از نظر اقتصادی به‌عنوان یکی از مهم‌ترین محصولات باغی مطرح شده است. یکی از شاخصه‌های کیفی روغن زیتون، میزان بالای اسیدهای چرب غیراشباع آن می‌باشد. علاوه‌بر اسید اولئیک (C۱۸:۱) که به‌عنوان مهم‌ترین اسید چرب تک غیر اشباعی (MUFA[3]) در میوه زیتون وجود دارد، اسیدهای چرب لینولئیک (C۱۸:۲) و آلفا لینولنیک (C۱۸:۳) جزء اسیدهای چرب چند غیر اشباعی (PUFA[4]) موجود در روغن زیتون می‌باشند.

محتوا و ترکیب روغن میوه بین ارقام و ژنوتیپ‌های زیتون بسیار متغیر است (Razeghi-Jahromi, Zarei et al., 2022). این تغییر

۱- گروه تولید و ژنتیک گیاهی (بیوتکنولوژی)، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جهرم، جهرم، ایران

۲- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران

(*- نویسنده مسئول: Email: zarei@jahromu.ac.ir)

https://doi.org/10.22067/jhs.2025.94744.1451

3- Mono unsaturated fatty acids
4- Poly unsaturated fatty acids

در ابتدا به‌علت تفاوت در عوامل ژنتیکی می‌باشد، امّا ممکن است به‌علت تأثیر مرحله رسیدن میوه، شرایط محیطی و عملیات باغی به‌کارگرفته‌شده هم ایجاد گردد (Zarei et al., 2023; Matteucci et al., 2011). یکی از عوامل اصلی تعیین‌کننده کیفیت روغن‌های گیاهی خوراکی، ترکیب اسیدهای چرب روغن می‌باشد. PUFAها تأثیر بسیار بالایی بر کیفیت روغن زیتون دارند. از خصوصیات مهم روغن زیتون، درصد پایین اسید لینولنیک (C۱۸:۳) آن است که میزان استاندارد آن در روغن زیتون کمتر از یک درصد گزارش شده است (International Olive Council (IOC), 2019). همچنین میزان اسید لینولئیک در روغن مزوکارپ زیتون بین ارقام مختلف بسیار متفاوت و در محدود ۲۱–۲/۵ درصد می‌باشد (International Olive Council (IOC), 2019). میزان بالای اسید لینولئیک در روغن زیتون تأثیر منفی بر ویژگی‌های تکنولوژیکی روغن از جمله پایداری اکسیداتیو آن دارد و دارای ویژگی‌های تغذیه‌ای مهمی می‌باشد (Hernández et al., 2008). بدین ترتیب، افزایش نسبت MUFA/PUFA از اهداف اصلاحی پژوهشگران در جهت بهبود ترکیب اسیدهای چرب گیاهان دارای دانه روغنی و میوه‌های روغنی همچون زیتون، نخل روغنی (*Elaeis guineensis*) و آووکادو (*Persea americana*) می‌باشد (Razeghi-Jahromi, Parvini et al., 2022). از طرفی، سطوح پایین اسید آلفا لینولنیک برای تولید عطر و طعم روغن طی فرآیندهای تولید روغن بکر ضروری می‌باشد (Hernández et al., 2016). به عبارتی، علاوه‌بر نسبت‌های بالای اسیدهای چرب غیراشباع به انواع اشباع، سطوح بالای اسید اولئیک و اسید آلفا لینولنیک و سطوح کم اسید لینولئیک، در بهبود کیفی، ارزش تغذیه‌ای، عطر و پایداری روغن زیتون بسیار مؤثرند (Razeghi-Jahromi, Parvini, et al., 2022; Leon et al., 2008).

یکی از دلایل تغییر در سطوح روغن و نوع اسیدهای چرب، بیان متفاوت ژن‌های مسیر بیوسنتزی انواع اسیدهای چرب می‌باشد. به‌طور اختصاصی تغییر در میزان اسیدهای چرب غیر اشباع به‌وسیله فعالیت آنزیم‌های غیراشباع‌کننده اسید چرب[1] (FADs) تنظیم می‌گردد (Niu et al., 2022; Sabetta et al., 2013). براساس میزان حلالیت، FADها به دو گروه اصلی تقسیم می‌شوند: آنزیم‌های غیراشباع‌کننده متصل‌شونده به غشاء و غیراشباع‌کننده‌های محلول (El Faqer et al., 2024). استئارویل ACP دساچوراز (SAD) تنها FAD محلول می‌باشد که در ماتریکس پلاستید وجود دارد، درحالی‌که غیراشباع‌کننده‌های متصل به غشاء FAD در انواع ارگانیسم‌ها شامل گیاهان، جلبک‌ها، حیوانات و قارچ‌ها وجود دارند (Chen et al., 2011). SAD، FAD4، FAD5، FAD6، FAD7، و FAD8

1- Fatty acid desaturase

گروهی از آنزیم‌هایی می‌باشند که در پلاستیدها یافت می‌شوند و نقش مهمی در فرآیند غیراشباع‌سازی اسیدهای چرب ایفا می‌کنند (Wallis & Browse, 2002). از طرفی، FAD2 و FAD3 در شبکه آندوپلاسمیک قرار دارند و مسئول فرآیند غیراشباع‌سازی خارج از کلروپلاست می‌باشند (El Faqer et al., 2024). ژن‌های SAD مسئول تبدیل اسیدچرب اشباع استئاریک به اسید اولئیک می‌باشند و مرحله بعدی غیر اشباع‌سازی یعنی تبدیل اسید اولئیک به اسید لینولئیک توسط FAD2 در شبکه آندوپلاسمی و FAD6 در پلاستیدها انجام می‌شود، درحالی‌که غیراشباع‌سازی اسید لینولئیک به اسید لینولنیک به‌ترتیب در شبکه آندوپلاسمی و پلاستیدها توسط FAD3 و FAD7/FAD8 انجام می‌شود (Parvini et al., 2014; Sharma & Chauhan, 2012).

در زیتون ژن‌های FAD7 وFAD3، دساچورازهای اسیدهای چرب امگا ۳ را کد می‌کنند که واکنش سنتز اسید چرب لینولئیک (امگا–۶) به اسید آلفالینولنیک (امگا–۳) را به‌ترتیب در پلاستیدها و شبکه آندوپلاسمیک کاتالیز می‌کنند (Banilas et al., 2007). تاکنون ژن‌های شناسایی‌شده در بیوسنتز اسید لینولنیک در زیتون شامل چهار لینولئات دساچوراز می‌باشند که دو عدد از آن‌ها در شبکه آندوپلاسمیک (*OeFAD3A* و *OeFAD3B*) و دو عدد در پلاستید (*OeFAD7-1* و *OeFAD7-2*) فعال می‌باشند (Serrano et al., 2024; Hernández et al., 2016; Banilas et al., 2007; Poghosyan et al., 1999). گزارش‌ها حاکی است که از بین این ایزوفرم‌های FAD7، ژن FAD7-1 نقش مهمی در میزان اسید لینولنیک در مزوکارپ میوه زیتون ایفا می‌کنند، درحالی‌که از بین ایزوفرم‌های FAD3، ژن FAD3A مهم‌ترین ایزوفرم در بافت دانه می‌باشد (Hernández et al., 2016). در زیتون، *OeFAD3* تنها قادر به تبدیل C۱۸:۲ به C۱۸:۳ می‌باشد و *OeFAD7* علاوه‌بر این، قابلیت تبدیل C۱۶:۲ به C۱۶:۳ را نیز دارد (Poghosyan et al., 1999). در مجموع، این ژن‌ها از الگوی پیچیده‌ای شامل تنظیم نموی، بافتی و محیطی پیروی می‌کنند.

در میوه زیتون، روغن در دو بافت متفاوت تجمع پیدا می‌کند. یکی از این دو بافت، مزوکارپ میوه می‌باشد که بیشترین تجمع روغن را دارد و دیگری دانه میوه است که به‌وسیله اندوکارپ سخت احاطه شده است (Hernández et al., 2016). به‌خاطر اهمیت مزوکارپ برای استخراج روغن در زیتون، بیشتر پژوهش‌های گذشته روی بیوسنتز روغن در بافت مزوکارپ میوه انجام شده و فرآیند بیوسنتز روغن در دانه میوه کمتر مطالعه شده است (Razeghi-Jahromi, Zarei et al., 2022; Hernández et al., 2021; Sabetta et al., 2013; Banilas et al., 2007). به هر حال، مطالعه ژن‌های بیوسنتزی اسیدهای چرب روغن در بافت‌های مزوکارپ و دانه میوه

زیتون، نه‌تنها اطلاعاتی در مورد نحوه تولید و تجمع روغن را فراهم می‌کند، بلکه می‌تواند در برنامه‌های اصلاحی برای بهبود کیفیت روغن زیتون با ارزش باشد و درک دانش فیزیولوژیکی نحوه تولید و تنظیم اسیدهای چرب روغن را نیز تعمیق بخشد.

درک مناسب و دقیقی از تعداد ژن‌های کنترل‌کننده، سازوکار و نحوه بیان بافتی و نموی ژن‌ها و همچنین نحوه تنظیم ژن‌های کدکننده آنزیم‌های کنترل‌کننده میزان اسیدهای چرب غیر اشباع یا همان FADها، می‌تواند اطلاعات با ارزشی در مورد عوامل تعیین‌کننده سطوح اسیدهای چرب مختلف در روغن زیتون در اختیار ما قرار دهد. برای این منظور، مطالعه بیان ژن‌های کلیدی خانواده غیراشباع‌کننده‌های لینولئات (*OeFAD3* و *OeFAD7*) که در فرآیند تبدیل اسید لینولئیک به اسید لینولنیک اهمیت بالایی دارند، با هدف تشخیص تفاوت بیان این ژن‌ها در دو رقم ایرانی ('ماری'[1] و 'شنگه'[2]) و مقایسه آن با ارقام خارجی ('آربکین'[3] و 'کرونیکی'[4]) طی مراحل نمو و رسیدگی میوه در بافت‌های دانه و مزوکارپ مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این پژوهش روی دو رقم زیتون بومی ایران به‌نام‌های 'ماری' و 'شنگه' و دو رقم مدیترانه‌ای 'کرونیکی' و 'آربکین' انجام شد. از نظر ترکیب اسیدهای چرب، ارقام 'ماری' و 'کرونیکی' به‌دلیل نسبت بالای C۱۸:۱ (به‌ترتیب ۸۰/۸۷ درصد و ۷۵/۵۹ درصد) و نسبت پایین C۱۸:۲، جزء ارقام با کیفیت مرغوب روغن محسوب شده و ارقام 'شنگه' و 'آربکین' به‌دلیل نسبت پایین‌تر C۱۸:۱ (به‌ترتیب ۵۲/۳۰ درصد و ۵۷/۳۸ درصد) و نسبت بالای C۱۸:۲ جزء ارقام زیتون دارای روغن با مرغوبیت کمتر به حساب می‌آیند (Gómez-González et al., 2011). ارقام 'ماری' و 'شنگه' دو رقم بومی ایران می‌باشند که به‌ترتیب به‌عنوان ارقام با اهداف تازه‌خوری و تولید روغن کشت‌وکار می‌شوند (Razeghi-Jahromi et al., 2021). رقم 'ماری' به‌دلیل میوه‌های نسبتاً کشیده آن به این نام معروف شده است. این رقم در ناحیه شمال ایران گسترش یافته و میوه آن زودرس است. رقم 'شنگه' نیز بومی منطقه شمال ایران است و میوه‌ای میان‌رس دارد. رقم 'کرونیکی' یکی از مهم‌ترین ارقام بومی یونان بوده که در گروه ارقام دیررس قرار گرفته و حاوی روغن با کیفیت مرغوب می‌باشد. رقم 'آربکین'، مهم‌ترین رقم زیتون منطقه کاتالونیای اسپانیا می‌باشد که میوه‌ای میان‌رس با میزان بالای روغن دارد و به همین دلیل از جهت درصد روغن بسیار مورد توجه است. ارقام 'کرونیکی' و 'آربکین' با هدف تولید روغن در ایران به‌صورت گسترده کشت شده‌اند (Tous & Vega, 2022; Azimi et al., 2016). ارقام مورد بررسی در ایستگاه تحقیقاتی زیتون طارم کشت شده بودند و توسط سیستم آبیاری قطره‌ای که دارای هشت قطره چکان برای هر درخت با دبی هشت لیتر بر ساعت برای هر قطره چکان می‌باشد، در فصل تابستان هر چهار روز یک‌بار آبیاری می‌شدند.

تاریخ ۲۵ اردیبهشت ماه به‌عنوان مبنای تاریخ تمام‌گل در نظر گرفته شد. در این تاریخ، بیش از ۷۰ درصد گل‌های باغ به‌طور کامل باز شده بودند و به همین علت روز پس از گل‌دهی کامل (DAFB[5]) به‌عنوان مبنای نمونه‌برداری برای مراحل مختلف استفاده گردید. در روزهای ۶۴، ۹۰، ۱۲۰، ۱۵۰ و ۱۸۰ روز پس از تمام‌گل درختان، از دانه‌های در حال تکوین و بافت مزوکارپ میوه، که منطبق با مراحل مختلف نموی میوه زیتون است، نمونه‌گیری انجام گردید (Matteucci et al., 2011). نمونه‌ها برای استخراج ریبونوکلئیک اسید در ازت مایع فریز و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. لازم به ذکر است که از هر رقم، سه درخت به‌عنوان سه تکرار زیستی نمونه‌برداری گردید.

جهت بررسی بیان ژن‌های اولئات دساچوراز در این ارقام، جفت آغازگرهای پیش‌رو و پس‌رو (با طول ۲۳-۱۹ نوکلئوتیدی) با کمک برنامه برخط primer3 (http://frodo.wi.mit.edu/cgi-bin/primer3/primer3_www.cgi) طراحی گردید، به‌طوری که توانایی تکثیر قطعاتی به‌طول ۱۲۰-۲۰۰ جفت باز با دمای ذوب ۶۱-۵۹ درجه سانتی‌گراد را داشته باشند (جدول ۱). جهت بررسی صحت عملکرد آغازگرهای طراحی‌شده نیز از برنامه برخط دیگری به آدرس http://eu.idtdna.com/analyzer/Applications/OligoAnalyzer/ استفاده گردید.

به‌منظور استخراج RNA کل، میزان ۰/۲ گرم از هر دو بافت دانه و مزوکارپ ارقام زیتون مورد بررسی در هریک از زمان‌های ۶۴، ۹۰، ۱۲۰، ۱۵۰ و ۱۸۰ روز پس از تمام‌گل (DAFB) در حضور ازت مایع پودر گردید و با استفاده از کیت استخراج RNA شرکت کیاژن (RNeasy plant mini kit) و مطابق دستورالعمل شرکت تولیدکننده، استخراج گردید. ارزیابی کمیت و کیفیت RNA استخراجی توسط دستگاه نانودراپ (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) و الکتروفورز در ژل آگارز ۱/۵ درصد و مشاهده زیر نور ماوراء بنفش انجام گرفت. برای حذف DNA احتمالی در نمونه‌های RNA استخراج‌شده، نمونه‌ها با آنزیم RNase-free DNases (Qiagen, Hilden, Germany) براساس دستورالعمل شرکت سازنده تیمار

1- Mari
2- Shengeh
3- Arbequina
4- Koroneiki

5- Days after full bloom

گردید. پس از تیمار با آنزیم DNase، میزان یک میکروگرم از RNA استخراج‌شده از هر یک از بافت‌های دانه و مزوکارپ ارقام مذکور در هریک از زمان‌های ۷۷، ۹۰، ۱۲۰، ۱۵۰ و ۱۸۰ روز پس از تمام‌گل برای سنتز cDNA مورد استفاده قرار گرفت. سنتز cDNA با استفاده از کیت رونوشت‌بردار معکوس Quanti-Tect reverse transcription شرکت (Qiagen, Hilden, Germany) و مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده صورت گرفت.

واکنش Real time PCR

میزان یک میکرولیتر از cDNA سنتزشده به همراه ۱۰ پیکومول از هر یک از آغازگرهای رو به جلو و رو به عقب، پنج میکرولیتر از محلول کیت مخصوص Real Time PCR حاوی ماده قابل ردیابی سایبرگرین (Qiagen, Hilden, Germany) در یک مخلوط واکنش که با آب مقطر به حجم نهایی ۱۰ میکرولیتر رسیده بود، برای تکثیر قطعات مد نظر در دستگاه Real-Time PCR مدل Applied Biosystems 7500 (Life Technology) قرار گرفت. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز به‌صورت زیر طراحی گردید: یک مرحله واسرشته‌سازی اولیه به مدت ۱۰ ثانیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد و مرحله تکثیر شامل ۴۰ چرخه متشکل از قرار دادن مخلوط واکنش به مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، یک دقیقه در دمای اختصاصی هر آغازگر (جدول ۱) و ۳۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد. اختصاصیت قطعات تکثیری به‌وسیله الکتروفورز محصول پی سی آر و توالی‌یابی قطعات تأیید گردید. ژن یوبی کویتین ۲ زیتون (*OeUBQ2*) با شماره دسترسی بانک ژن AF429430 به‌عنوان ژن رفرنس داخلی برای نرمال کردن بیان ژن‌ها استفاده شد. بیان نسبی ژن‌ها با استفاده از معادله $2^{-\Delta\Delta Ct}$ محاسبه گردید (Livak and Schmittgen, 2001). این پژوهش به‌صورت فاکتوریل و برپایه طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت. عامل‌های مورد ارزیابی شامل رقم زیتون (چهار رقم)، زمان نمونه‌گیری (پنج مرحله)، و بافت میوه (دو بخش مزوکارپ و بذر) بود. برای هر نمونه آزمایشی سه تکرار تکنیکی در نظر گرفته شد. آنالیز داده‌ها توسط نرم‌افزار آماری SAS (ver. 9.4) انجام گرفت و میانگین داده‌ها با استفاده از روش توکی در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه شدند.

جدول ۱- مشخصات آغازگرها و طول قطعه حاصل از PCR ژن‌های اولئات دساچوراز برای تکثیر قطعات مربوطه توسط واکنش زنجیره‌ای پلیمراز
Table 1- The characteristics of primer and PCR product sizes for oleate desaturase genes used to amplify the corresponding fragments by polymerase chain reaction

ژن Gene	شماره دسترسی Accession number	توالی آغازگر Primer sequences (5'⟶ 3')	دمای اتصال بهینه Optimum annealing temperature (℃)	طول قطعه Fragment length (bp)
OeFAD3	DQ788673	Forward: GTGGCAAGGAATGGAGTTAC Reverse: CACTTGTCGCCTCTTCTAAG	60	152
OeFAD7	DQ788674	Forward: ACAGGGGAAAGGAATGGAG Reverse: AGGGTAGAGGTGATGTATG	60	180
OeQUB2	AF429430	Forward: AAAAGGAGTCAACCCTCCA Reverse: TGCCCTCCTTGTCCTGTATC	60	150

نتایج

بررسی الگوی بیان ژن OeFAD7 در بافت مزوکارپ میوه زیتون

بررسی بیان ژن *OeFAD7* در مزوکارپ میوه طی فرآیند نمو و رسیدگی میوه بیانگر تفاوت معنی‌دار در بیان این ژن در مراحل مختلف زمانی طی رسیدن میوه بود (جدول ۲). همچنین مقایسه میزان بیان این ژن در چهار رقم مورد بررسی بیانگر تفاوت معنی‌دار بیان آن بین ارقام زیتون می‌باشد (جدول ۳).

هرچند الگوی بیان ژن *OeFAD7* در مزوکارپ زیتون در ارقام مختلف روند منحصربه‌فردی را طی کرد، ولی بیان این ژن به‌طورکلی در تمام ارقام مختلف زیتون مورد بررسی یک مرحله افزایش بیان را دارا بود، هرچند این مرحله افزایش بیان بسته به نوع رقم در زمان متفاوتی حاصل شد (شکل ۱a). افزایش بیان ژن *OeFAD7* در دو رقم 'آربکین' و 'شنگه' در مرحله ۹۰ روز پس از تمام‌گل و در رقم 'ماری' در مرحله ۱۲۰ روز پس از تمام‌گل ثبت گردید. در رقم 'کرونیکی'، این پیک افزایش بیان با دوام‌تر از بقیه ارقام بود و از مرحله ۱۲۰ روز پس از تمام‌گل تا ۱۵۰ روز پس از تمام‌گل طول کشید. به هر حال پس از این مرحله افزایش بیان، که در اواسط مراحل رشد میوه اتفاق افتاد، بیان ژن *OeFAD7* در دو رقم بومی 'ماری' و 'شنگه' کاهش یافت، به‌طوری که در آخرین مرحله نمونه‌گیری، میزان بیان این ژن در رقم 'شنگه' به سطح مرحله اول رسید. میزان بیان ژن *OeFAD7* در مزوکارپ رقم ماری در زمان ۱۸۰ روز پس از تمام‌گل حتی کمتر از مرحله ۶۴ روز پس از تمام‌گل ثبت گردید. در ارقام خارجی، بیان این ژن در مراحل نهایی رشد تا حدودی متفاوت از ارقام بومی بود، به‌طوری که در رقم 'آربکین' در مرحله ۱۸۰ روز پس از تمام‌گل، پیک ثانویه‌ای از بیان این ژن ثبت

شد که بیشتر از پیک اولیه بود و در رقم 'کرونیکی' با وجود اینکه در مرحله ۱۸۰ روز پس از تمام‌گل بیان *OeFAD7* نسبت به مرحله قبلی کاهش یافت، ولی هنوز نسبت به مراحل ۶۴ و ۹۰ روز پس از تمام‌گل، بیان بیشتری را نشان داد (شکل ۱a).

در این پژوهش، بیشترین بیان ژن *OeFAD7* در بافت مزوکارپ میوه مربوط به رقم 'آربکین' و در مرحله ۱۸۰ روز پس از تمام‌گل بود، درحالی‌که کمترین بیان این ژن در رقم ماری و در آخرین مرحله نمونه‌گیری (۱۸۰ روز پس از تمام‌گل) مشاهده گردید. همچنین بررسی الگوی کلی بیان این ژن در مراحل مختلف بین ارقام مورد بررسی بیانگر این است که در بیشتر مراحل رشد ارقام خارجی 'کرونیکی' و 'آربکین'، بیان بیشتری نسبت به ارقام بومی 'ماری' و 'شنگه' داشتند. به‌طورکلی، رقم 'کرونیکی' به‌خصوص در مراحل میانی نمونه‌گیری، بیشترین بیان ژن *OeFAD7* را به خود اختصاص داد.

بررسی الگوی بیان ژن OeFAD7 در بافت دانه میوه زیتون

بیان ژن *OeFAD7* در دانه میوه زیتون در مراحل مختلف طی فرآیند نمو و رسیدگی میوه و بین ارقام مختلف زیتون متفاوت بود (جدول ۲). به‌طورکلی، نتایج بیانگر تفاوت الگوی بیان ژن *OeFAD7* در دانه نسبت به بافت مزوکارپ میوه زیتون بود (جدول ۳). به عبارتی، برخلاف مزوکارپ میوه، بیشترین بیان این ژن در بافت دانه در مراحل اول نمونه‌گیری ثبت شد و روند کلی بیان آن در ارقام مورد بررسی در طول دوره رسیدن میوه کاهشی بود (شکل ۱b). در دو رقم 'آربکین' و 'شنگه'، بیشترین بیان ژن *OeFAD7* در مرحله ۶۴ روز پس از تمام‌گل ثبت گردید درحالی‌که در ارقام 'ماری' و 'کرونیکی'، پیک رشدی این ژن مربوط به مرحله ۹۰ روز پس از تمام‌گل بود.

در بین ارقام مورد مطالعه و مراحل مختلف نموی میوه، بیشترین و کمترین بیان *OeFAD7* در دانه مربوط به رقم 'آربکین' به‌ترتیب در مرحله ۶۴ روز پس از تمام‌گل و ۱۸۰ روز پس از تمام‌گل ثبت گردید (شکل ۱b). بیان ژن *OeFAD7* در رقم بومی ' شنگه' برخلاف دیگر ارقام مورد بررسی در این پژوهش، کمترین بیان این ژن در مرحله ۱۵۰ روز پس از تمام‌گل ثبت گردید و در مرحله آخر نمونه‌گیری افزایش بیان قابل توجهی در این ژن نشان داد.

روند کلی بیان این ژن در بافت دانه بیانگر این بود که رقم 'کرونیکی' در اکثر مراحل نمونه‌برداری، بیان بیشتری نسبت به دیگر ارقام داشت و رقم 'ماری'هم در اکثر مراحل کمترین بیان را در بین ارقام نشان داد. از طرف دیگر، مقایسه بیان این ژن بین دو بافت مزوکارپ و دانه بیانگر این موضوع است که به‌طورکلی ژن *OeFAD7* در دانه زیتون بیان بسیار کمتری نسبت به بافت مزوکارپ میوه دارا می‌باشد.

جدول ۲- تجزیه واریانس بیان ژن‌های *OeFAD7* و *OeFAD3* طی مراحل رشدی میوه در ارقام مختلف بومی و وارداتی زیتون

Table 2- Analysis of variance of *OeFAD7* and *OeFAD3* gene expression during fruit developmental stages in different native and introduced olive cultivars

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean of squares	
		OeFAD7	*OeFAD3*
رقم Cultivar	3	4.80**	0.073**
زمان Time	4	0.67**	0.3056**
بافت Tissue	1	24.044**	0.05933**
رقم × زمان Time × cultivar	12	1.84**	0.0465**
رقم × بافت Tissue × cultivar	3	4.43**	0.068**
زمان × بافت Time × tissue	4	0.99**	0.0305**
رقم × بافت × زمان Time × tissue × cultivar	12	1.08**	0.0450**
اشتباه آزمایشی Error	80	0.20	0.0012

**: معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد.

**: Significant at 1% of probability level.

جدول ۳- اثر سه‌گانه رقم× زمان برداشت× نوع بافت بر بیان ژن‌های *OeFAD7* و *OeFAD3* میوه زیتون

Table 3–Triple interaction of cultivar × harvest time × tissue type on the expression of OeFAD7 and OeFAD3 genes in olive fruit

رقم Cultivar	بافت Tissue	زمان Time (DAFB)	OeFAD7	OeFAD3
’ماری‘ ‘Mari’	مزوکارپ Mesocarp	64	0.19 fg*	0.0035 g
		90	0.17 fg	0.0028 g
		120	1.22 cd	0.0013 g
		150	0.29 efg	0.00029 g
		180	0.032 fg	0.0042 g
	دانه Seed	64	0.038 fg	0.188 de
		90	0.075 fg	0.15 de
		120	0.023 g	0.0073 fg
		150	0.008 g	0.0018 g
		180	0.009 g	0.000023 g
’شنگه‘ ‘Shengeh’	مزوکارپ Mesocarp	64	0.11 fg	0.0015 g
		90	0.55 ef	0.00080 g
		120	0.15 fg	0.000155 g
		150	0.13 fg	0.00181 g
		180	0.11 fg	0.00007 g
	دانه Seed	64	0.17 fg	0.206 cd
		90	0.045 fg	0.026 fg
		120	0.07 fg	0.014 fg
		150	0.004 g	0.00054 g
		180	0.10 fg	0.00083 g
’کرونیکی‘ ‘Kroneiki’	مزوکارپ Mesocarp	64	0.41 de	0.0041 g
		90	0.74 de	0.00180 g
		120	2.70 b	0.004 g
		150	3.40 a	0.14 fg
		180	1.54 c	0.0019 g
	دانه Seed	64	0.041 fg	0.090 efg
		90	0.16 fg	0.31 c
		120	0.12 fg	0.12 def
		150	0.09 fg	0.44 b
		180	0.026 g	0.213 cd
’آربکین‘ ‘Arbequina’	مزوکارپ Mesocarp	64	0.76 de	0.007 fg
		90	2.26 b	0.0073 fg
		120	0.32 efg	0.0003 g
		150	0.36 efg	0.00015 g
		180	3.8 a	0.0012 g
	دانه Seed	64	0.25 efg	0.22 cd
		90	0.14 fg	0.18 de
		120	0.010 g	0.0025 g
		150	0.025 g	0.014 fg
		180	0.001 g	0.67 a

*میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف مشابه‌ایی می‌باشند از نظر آماری با استفاده از آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

* Means in each column that share the same letter are not significantly different statistically based on Tukey’ test at $p \leq 0.05$.

بررسی الگوی بیان ژن *OeFAD3* در بافت مزوکارپ میوه زیتون

بیان ژن *OeFAD3* در مزوکارپ میوه زیتون طی فصل رشد و با نمو و رسیدگی میوه تفاوت معنی‌داری را نشان داد و در مراحل مختلف نمونه‌گیری میزان بیان متفاوتی از این ژن در هر رقم ثبت گردید (جدول ۲). علاوه‌بر این، بیان این ژن در ارقام زیتون مورد مطالعه هم تغییرات زیادی را نشان داد (جدول ۳). روند کلی بیان این ژن در اکثر ارقام همزمان با رسیدن میوه کاهشی بود (شکل ۱c). در مورد سه رقم ’ آربکین‘، ’ماری‘ و ’شنگه‘، بیشترین بیان این ژن در مرحله اول نمونه‌برداری (۶۴ روز پس از تمام‌گل) ثبت شد و پس از

این مرحله بیان به‌مرور کاهش یافت، به‌طوری که کمترین بیان ژن در دو رقم بومی 'ماری' و 'شنگه' در آخرین مرحله نمونه‌برداری (۱۸۰ روز پس از تمام‌گل) مشاهده گردید. در مورد رقم 'آربکین' در مرحله ۱۸۰ روز پس از تمام‌گل نسبت به دو مرحله قبل، بیان این ژن مقداری افزایش یافت (شکل ۱c). بیان ژن *OeFAD3* در رقم 'کرونیکی' نسبت به دیگر ارقام تا حدودی متفاوت بود، به‌طوری که پس از کاهش در مرحله ۹۰ روز پس از تمام‌گل، میزان بیان افزایش یافت و به بیشترین میزان خود در مرحله ۱۵۰ روز پس از تمام‌گل رسید. به هر حال در این رقم هم کمترین میزان بیان در مرحله رسیدن میوه ثبت گردید. به‌طورکلی، بیان این ژن در اکثر مراحل رشدی در ارقام بین‌المللی مورد مطالعه بیشتر از ارقام بومی ایران بود. همچنین بیشترین و کمترین بیان ژن *OeFAD3* در این پژوهش به‌ترتیب مربوط به رقم 'کرونیکی' در مرحله ۱۵۰ روز پس از تمام‌گل و رقم ماری در مرحله ۱۸۰ روز پس از تمام‌گل مشاهده گردید (شکل ۱c). همچنین بیان ژن *OeFAD3* نسبت به بیان ژن *OeFAD7* در بافت مزوکارپ میوه زیتون ارقام مورد مطالعه بسیار پایین‌تر بود و روند نسبتاً متفاوتی را طی مراحل رشد دارا بود.

بررسی الگوی بیان ژن *OeFAD3* در بافت دانه میوه زیتون

بیان ژن *OeFAD3* در دانه میوه زیتون، هم تحت تأثیر مرحله رشدی میوه قرار گرفت و هم در بین ارقام مختلف مورد بررسی متفاوت بود (جدول ۲). بیشترین بیان این ژن در رقم 'آربکین' و در مرحله ۱۸۰ روز پس از تمام‌گل ثبت گردید، درحالی‌که کمترین بیان در همین مرحله و در رقم 'شنگه' مشاهده شد (جدول ۲). الگوی بیان ژن *OeFAD3* در دانه زیتون تا حدودی شبیه به الگوی بیان این ژن در بافت مزوکارپ میوه بود، ولی در تمام مراحل آزمایش، میزان بیان بسیار بیشتری از این ژن در دانه نسبت به مزوکارپ میوه ثبت گردید. در مورد دو رقم بومی زیتون مورد استفاده، روند کلی بیان ژن *OeFAD3* در طی مراحل نموی میوه بسیار شبیه هم بود، به‌طوری که بیشترین بیان در هر دو رقم مربوط به مرحله اول نمونه‌گیری (۶۴ روز پس از تمام‌گل) بود و به‌مرور بیان این ژن با نمو میوه کاهش یافت و در مرحله رسیدن میوه به کمترین میزان رسید (شکل ۱d).

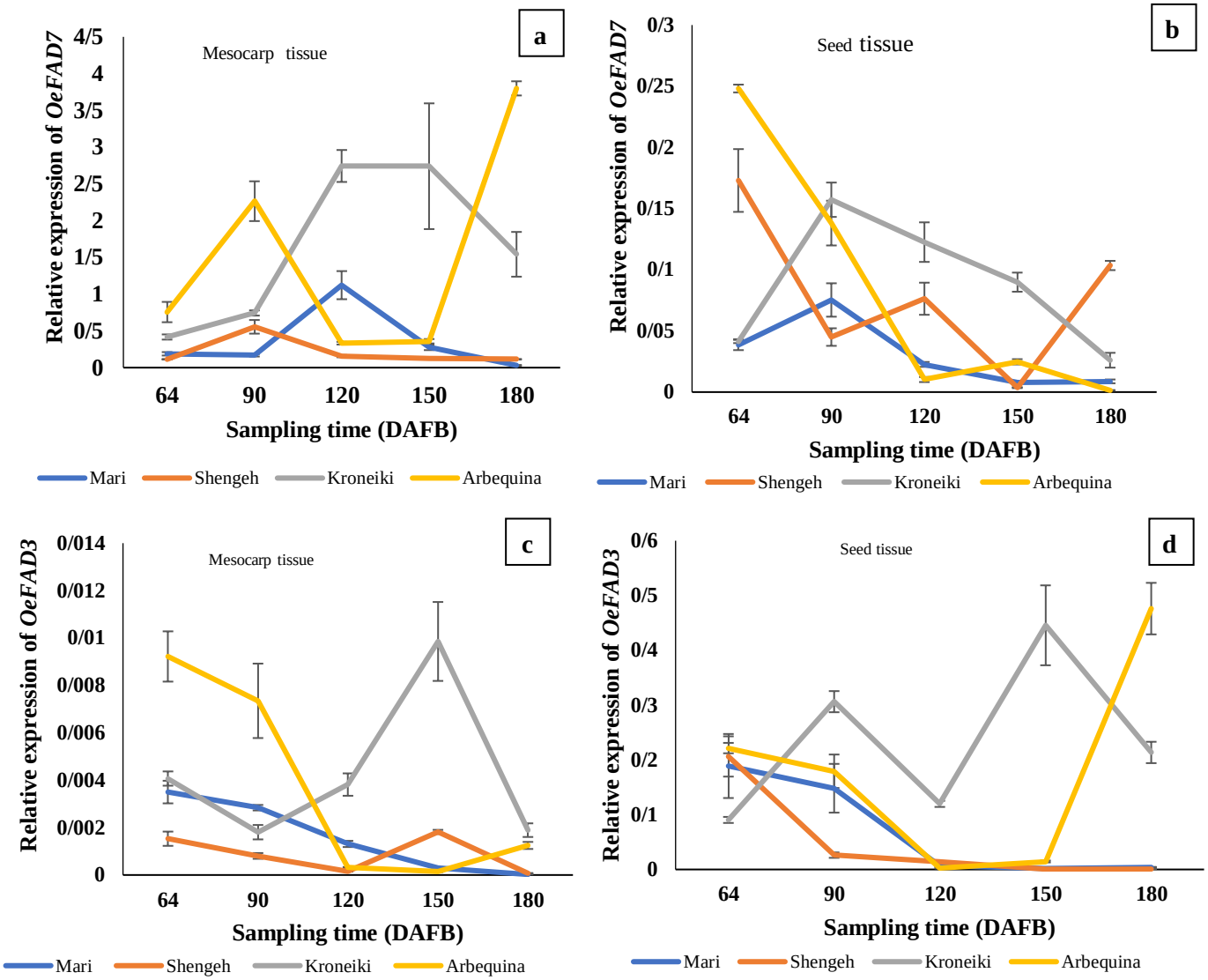
در رقم 'آربکین' نیز مانند دو رقم ایرانی، میزان بیان ژن *OeFAD3* در دانه طی نمو میوه کاهشی بود، ولی در مرحله ۱۸۰ روز پس از تمام‌گل، بیان این ژن افزایش قابل توجهی از خود نشان داد، به‌طوری که بیشترین میزان بیان در این رقم را ثبت نمود. مشابه با روند مشاهده‌شده در بافت مزوکارپ میوه، بیان ژن *OeFAD3* در دانه رقم 'کرونیکی' نیز نسبت به بقیه ارقام متفاوت بود و پس از افزایش نسبی در مرحله ۹۰ روز پس از تمام‌گل، با کاهش در مرحله ۱۲۰ روز پس از تمام‌گل مواجه شد و سپس با افزایش قابل توجه در مرحله بعد منجر به ثبت بیشترین بیان در مرحله ۱۵۰ روز پس از تمام‌گل گردید. هرچند بیان این ژن در مرحله رسیدن میوه کاهش قابل توجهی نسبت به مرحله قبل نشان داد، ولی هنوز هم میزان بیان آن افزایش معنی‌داری نسبت به مرحله ۶۴ روز پس از تمام‌گل داشت.

بحث

ترکیب اسید چرب، یک عامل مهم و تعیین‌کننده در کیفیت و ماندگاری روغن زیتون، بسیار وابسته به رقم زیتون بوده و تحت تأثیر مرحله نموی میوه و شرایط تغذیه‌ای و محیطی قرار می‌گیرد (Erfani-Moghadam & Zarei, 2025). برخی از این عوامل با تأثیر بر بیان ژن‌های بیوسنتزی اسیدهای چرب باعث تغییر کیفیت روغن می‌گردند. با وجود تلاش‌های زیادی که در شناسایی سازوکارهای مولکولی فرآیندهای متابولیکی زیتون انجام شده، هنوز ناشناخته‌های زیادی در مسیر بیوسنتزی این ترکیبات وجود دارد (Serrano et al., 2024; Skodra et al., 2021). یکی از مواردی که کمتر به آن پرداخته شده، اهمیت ژن‌های غیر اشباع‌کننده اولئات در کیفیت روغن زیتون می‌باشد (Hernández et al., 2016). به عبارتی، برخی موارد ممکن است که تفاوت کیفی روغن در ارقام مختلف زیتون منحصر به بیوسنتز اسید اولئیک (دارای یک پیوند دوگانه) نباشد و مربوط به تغییرات بعدی در این اسید چرب و تبدیل آن به اسید لینولئیک (دارای دو پیوند دوگانه) و اسید لینولنیک (دارای سه پیوند دوگانه) باشد.

نتایج این پژوهش نشان داد که رونوشت‌های هر دو ژن *OeFAD3* و *OeFAD7* در هر دو بافت مورد بررسی و در همه زمان‌های نمونه‌گیری در هر چهار رقم بررسی‌شده، وجود داشت. این نتایج نشان‌دهنده این است که بیان پایدار، هرچند با سطوح مختلف در این بافت‌ها وجود دارد. این نتایج منطبق با گزارش قبلی از بیان پایدار این ژن‌ها در تمامی مراحل رشد میوه در دیگر ارقام زیتون می‌باشد (Hernández et al., 2016).

الگوی کلی بیان ژن *OeFAD7* در بافت مزوکارپ میوه زیتون بین ارقام مطالعه‌شده بیانگر روند تقریباً یکنواخت با یک پیک افزایشی طی نمو میوه بود. تغییر بیان این ژن منطبق با نتایج گزارش‌های قبلی می‌باشد (Hernández et al., 2016, 2021; Poghosyan et al., 1999).



شکل ۱- الگوی بیان ژن‌های *OeFAD7* و *OeFAD3* در دو بافت مزوکارپ و دانه ارقام زیتون وارداتی ('آربکین' و 'کرونیکی') و بومی ('ماری' و 'شنگه') در مراحل مختلف نمو و رسیدگی میوه

Figure 1- Expression pattern of *OeFAD7* and *OeFAD3* genes in two tissues, mesocarp and seed, of imported olive cultivars ('Arbequina' and 'Koroneiki') and native cultivars ('Mari' and 'Shenghe') at different stages of fruit development and ripening

DAFB: روزهای پس از باز شدن کامل گل‌ها، میله‌های خطا: نشان‌دهنده میانگین ± انحراف از میانگین

DAFB: days after full bloom; Error bars: represent mean ± SD

A: بیان *OeFAD7* در بافت مزوکارپ؛ b: بیان *OeFAD7* در بافت دانه؛ c: بیان *OeFAD3* در بافت مزوکارپ؛ d: بیان *OeFAD3* در بافت دانه

A: *OeFAD7* expression in mesocarp; b:) *OeFAD7* expression in seed; c: *OeFAD3* expression in mesocarp; d: *OeFAD3* expression in seed.

بررسی بیان ژن *FAD7-1* در مزوکارپ رقم 'ابوکنانی'[1] بیانگر یک پیک بیان در مرحله تغییر رنگ تا بلوغ میوه بود، درحالی‌که در ژنوتیپ 'کلون-۱۴'[2] تغییرات زیادی در مراحل نموی میوه نشان نداد (Hernández et al., 2021). از طرفی، مطالعات نوردرن بلات از بیان ژن *OeFAD7* در زیتون نشان داد که بیشترین بیان این ژن در مراحل اولیه نمو میوه و حدود پنج هفته پس از گل‌دهی حاصل شد و میزان رونوشت این ژن در مرحله بزرگ شدن میوه کاهش یافت (Poghosyan et al., 1999). همچنین این محققان بیان نمودند که

1- Abou Kanani
2- Klon-14

میزان بیان این ژن در جنین و آندوسپرم میوه بسیار کم و با روش نوردرن بلات در حد غیر قابل ردیابی بود (Poghosyan et al., 1999). مشابه با نتایج حاصل از این پژوهش، هرناندز و همکاران (Hernández et al., 2016) گزارش کردند که بیان *OeFAD7* در زیتون رقم پیکوال طی مراحل رشدی میوه ابتدا کاهشی بوده و سپس در مرحله ۲۸ هفته پس از گل‌دهی با افزایش شدید به بیشترین میزان خود رسید و بعد از این مرحله دوباره روند کاهشی از خود نشان داد. همچنین این محققان گزارش نمودند که الگوی بیان این ژن در دانه میوه روند یکنواخت‌تری را در مراحل نموی میوه نشان داد و قله افزایشی مشاهده‌شده در مزوکارپ میوه را دارا نبود.

همچنین مقایسه میزان بیان ژن‌های غیراشباع‌کننده اولئات در این پژوهش، منطبق با نتایج پژوهش قبلی می‌باشد که بیانگر روند افزایشی اسید لینولنیک در بافت مزوکارپ زیتون طی نمو میوه در ارقام مورد بررسی بود (Hernández et al., 2021). به عبارتی، می‌توان تصور نمود که افزایش بیان ژن *OeFAD7* می‌تواند یکی از دلایل افزایش محتوای اسید لینولنیک طی مراحل رسیدن میوه در ارقام مورد بررسی باشد. به‌طور مشابه، مقایسه بیان ژن *OeFAD7* در ارقام مورد مطالعه، با محتوای اسید لینولئیک مزوکارپ این ارقام که در مطالعات قبلی گزارش شده است (Razeghi-Jahromi, Zarei et al., 2022)، بیانگر رابطه منفی بین این دو شاخصه در بافت مزوکارپ می‌باشد. به عبارتی، رقم 'کرونیکی' که بین ارقام مطالعه‌شده در این پژوهش بیشترین بیان ژن *OeFAD7* را در اکثر مراحل نموی به خود اختصاص داده بود، میزان اسید لینولئیک کمتری نسبت به بقیه ارقام دارا بود (Razeghi-Jahromi, Zarei et al., 2022). به‌علاوه بیشترین میزان اسید لینولئیک در این رقم در مرحله آخر نمونه‌گیری حاصل شد، مرحله‌ای که در این پژوهش با کاهش شدید بیان ژن *OeFAD7* همراه بود. از طرفی، ارقام 'آربکین' و 'شنگه' که در اکثر مراحل مورد بررسی بیان کمتری از ژن *OeFAD7* دارا بودند، میزان اسید لینولئیک بیشتری در بافت مزوکارپ خود دارا بودند (Razeghi-Jahromi, Zarei et al., 2022). این مشاهدات بیانگر این موضوع است که سطوح بیان ژن *OeFAD7* در بافت مزوکارپ میوه همبستگی منفی با میزان اسید لینولئیک بافت مزوکارپ میوه دارد که بیانگر نقش پررنگ این ژن در تبدیل اسید لینولئیک به اسید لینولنیک در مزوکارپ میوه زیتون می‌باشد. البته نوسانات بیان ژن در برخی مراحل و ارقام باعث می‌گردد که نتیجه‌گیری قطعی در این خصوص با احتیاط گرفته شود.

بررسی الگوی بیان ژن *OeFAD3* در بافت مزوکارپ بیانگر این موضوع بود که در مورد اکثر ارقام، بیشترین بیان این ژن در مرحله اول نمونه‌گیری وجود داشت و روند کلی بیان این ژن طی مراحل رشدی در اکثر ارقام نزولی بود. الگوی بیان *OeFAD3* در این پژوهش منطبق با گزارش‌های قبلی از بیان این ژن در دیگر ارقام زیتون می‌باشد (Hernández et al., 2016). به هر حال در پژوهش حاضر، بیان *OeFAD3* در بافت مزوکارپ رقم 'کرونیکی' نسبت به دیگر ارقام تا حدودی متفاوت بود و یک مرحله افزایش بیان که پیک آن در زمان ۱۵۰ روز پس از تمام‌گل بود را به ثبت رساند. لازم به ذکر است که هرناندز و همکاران (Hernández et al., 2016) گزارش نمودند که بیان *OeFAD3* دو رقم زیتون 'پیکوال' و 'آربکین' طی نمو میوه کاهشی بود، ولی رقم 'پیکوال' در مراحل آخر یک پیک افزایش بیان را در ژن *OeFAD3A* دارا بود. همچنین مشابه با بیان *OeFAD7*، رقم 'کرونیکی' در مراحل میانی رشد میوه نسبت به بقیه ارقام، میزان رونوشت‌های بیشتری از ژن *OeFAD3* را داشت. به‌علاوه، الگوی بیان ژن *OeFAD3* در این پژوهش رابطه معکوسی با محتوای اسید لینولئیک بافت مزوکارپ میوه گزارش‌شده در مطالعات قبلی از خود نشان داد (Razeghi-Jahromi, Zarei et al., 2022). به عبارتی، رقم 'کرونیکی' که در مراحل میانی این پژوهش بیشترین بیان مربوط به *OeFAD3* را ثبت نمود، دارای کمترین میزان اسید لینولئیک در بین ارقام زیتون مطالعه‌شده بود (Razeghi-Jahromi, Zarei et al., 2022). از طرفی، رقم 'شنگه' که در مطالعات گذشته بالاترین میزان لینولئیک را در بین ارقام مورد بررسی به خود اختصاص داده بود (Razeghi-Jahromi, Zarei et al., 2022)، کمترین بیان ژن *OeFAD3* را در تمام مراحل نمونه‌گیری دارا بود. به‌علاوه، بیان این ژن در مزوکارپ میوه در تمام مراحل رشدی بررسی‌شده، در رقم 'ماری' بیشتر از رقم 'شنگه' بود. لازم به ذکر است که گزارش‌ها بیانگر این مطلب است که کیفیت روغن زیتون رقم 'ماری' نسبت به رقم 'شنگه' بسیار بالاتر می‌باشد (Razeghi-Jahromi et al., 2021). بنابراین براساس نتایج این پژوهش، یکی از دلایل این کیفیت برتر را می‌توان به فعالیت بیشتر ژن *OeFAD7* و *OeFAD3* در مزوکارپ 'ماری' نسبت داد. این پیشنهاد می‌تواند به ارقام وارداتی مورد استفاده در این پژوهش هم تعمیم داده شود، به‌طوری که رقم 'کرونیکی' که به‌عنوان یک رقم دارای روغن با کیفیت بالا مطرح می‌باشد (Katsoyannos et al., 2015; Kandylis et al., 2011)، میزان بیان بیشتری از هر دو ژن *OeFAD7* و *OeFAD3* را در بافت مزوکارپ خود نسبت به رقم 'آربکین' داشت. این نتایج بیانگر نقش تأثیرگذار این ژن‌ها در تبدیل اسید لینولئیک به اسید لینولنیک می‌باشد که نقش پررنگی در تغییر محتوای اسیدهای چرب در این میوه ایفا می‌کنند. البته باید به این نکته توجه نمود که محتوای اسیدهای چرب از جمله اسید لینولئیک یکی از عوامل کیفی موجود در روغن زیتون می‌باشد و کیفیت کلی

علاوه‌بر میزان بالای اسید چرب تک غیر اشباعی اسید اولئیک و درصد مناسب اسید لینولئیک و اسید لینولنیک برآیندی از عوامل مختلف از جمله انواع مولکول‌های کوچک فعال از قبیل فنول‌ها، فیتواسترول‌ها، اسکوالن و توکوفرول که از جنبه تغذیه‌ای مطلوب هستند، می‌باشند (Zhang et al., 2024).

همچنین نتایج این پژوهش نشان داد که بیان ژن *OeFAD3* نسبت به ژن *OeFAD7* در بافت مزوکارپ میوه ارقام زیتون مطالعه‌شده، بسیار کمتر بود که بیانگر نقش کمتر غیراشباع‌کننده‌های اولئات میکروزمی (شبکه آندوپلاسمی) نسبت به همتای پلاستیدی در فرآیند تبدیل اسید لینولئیک به اسید لینولنیک می‌باشد. این نتایج همسو با گزارش‌های قبلی از بررسی بیان این ژن‌ها در بافت مزوکارپ ارقام 'کرونیکی' (Banilas et al., 2007; Poghosyan et al., 1999)، 'کانینو'[1]، 'فرانتویو'[2] و 'مورایولو'[3] (Matteucci et al., 2011)، 'پیکوال' و 'آربکین' (Hernández et al., 2016) و 'ابوکنانی' و 'کلون-۱۴' (Hernández et al., 2021) می‌باشد. این مطالعات بیان می‌کند که از بین دو ژن *OeFAD7* و *OeFAD3*، ژن *OeFAD7* اهمیت بالاتری در تولید اسید لینولنیک در بافت مزوکارپ میوه زیتون، و کیفیت روغن آن دارا می‌باشد (Hernández et al., 2021). به‌طور اختصاصی‌تر گزارش‌ها بیانگر این است که ژن اولئات دساچوراز پلاستیدی (*OeFAD7*) به‌عنوان ژن اصلی در تبدیل اسید لینولئیک به اسید لینولنیک بافت مزوکارپ زیتون و در نتیجه روغن آن عمل می‌کند، درحالی‌که ژن اولئات دساچوراز میکروزومی (*OeFAD3*) نقش مهم‌تری در تولید اسید لینولنیک در دانه میوه زیتون دارد (Hernández et al., 2016). همچنین پیشنهاد شده که در مزوکارپ میوه زیتون، لینولئیک اسیدی که در شبکه آندوپلاسمی توسط ژن‌های *OeFAD2* سنتز می‌شود، به کلروپلاست منتقل شده و در این اندامک توسط ژن‌های *OeFAD7* فرآیند غیر اشباع‌سازی بیشتر روی آن انجام می‌گردد و تبدیل به اسید لینولنیک می‌شود و سپس دوباره به شبکه آندوپلاسمی منتقل می‌گردد و در ساختار تری آسیل گلیسرول به کار می‌رود (Hernández et al., 2021). نتایج مطالعات قبلی حاکی از این است که mRNA ژن *FAD3* در هر دو بافت برگ و ریشه گیاه آرابیدوپسیس (*Arabidopsis thaliana*) و تنباکو (*Nicotiana tabacum*) گزارش شده است، درحالی‌که رونوشت‌های *FAD7* فقط در بافت‌های دارای کلروفیل این دو گونه گزارش شده است (Nishiuchi et al., 1999). این محققان گزارش کردند که ژن *FAD7* ترجیحاً در بافت‌های کلروفیلی بیان می‌شود، ولی زخم زدن گیاه باعث می‌شود که این ژن در بافت‌های غیر کلروفیلی هم بیان شود (Nishiuchi et al., 1999). دلیل این امر نیز وجود نواحی القاءشونده در اثر زخم‌زنی در پیش‌بر این ژن می‌باشد که در پاسخ گیاه به تنش از طریق افزایش تولید اسید لینولنیک و در نهایت اسید جاسمونیک دخیل می‌باشد (Nishiuchi et al., 1999). همچنین گزارش شده است که *OeFAD7* در زیتون غیراشباع‌کننده‌ای است که بیشترین بیان را در مراحل اولیه روغن‌زایی[4] داشته و میزان آن بعد از اعمال سرما، صرف نظر از نوع ژنوتیپ افزایش می‌یابد (Matteucci et al., 2011). بنابراین، به نظر می‌رسد که القای بیان این ژن در پاسخ به تنش‌های مختلف بیانگر نقش مهم این ژن در سنتز اسید لینولنیک، که پیش‌ساز هورمون جاسمونیک است، و در جهت افزایش توان دفاعی گیاه می‌باشد. با توجه به اینکه مزوکارپ میوه زیتون دارای فعالیت فتوسنتزی می‌باشد (Garrido et al., 2023; Hernández et al., 2016)، میزان بالاتر بیان ژن اولئات دساچوراز بافت مزوکارپ نسبت به دانه آن را می‌توان تا حدودی به محتوای بالاتر کلروفیل میوه زیتون نسبت به دانه آن نسبت داد. به عبارتی، می‌توان تصور کرد که کاهش بیان ژن *OeFAD7* که بیشتر در مراحل آخر رسیدن میوه مشاهده گردید، ممکن است در اثر تجزیه کلروفیل و رنگ گرفتن میوه باشد که در مرحله رسیدن میوه اتفاق می‌افتد. در تأیید گزارش ذکرشده، نتایج این پژوهش نشان داد که میزان بیان ژن *OeFAD3* در دانه میوه بسیار بیشتر از مزوکارپ بود و حتی بیان این ژن در دانه در اکثر مراحل نمونه‌گیری بیشتر از بیان ژن *OeFAD7* در دانه بود. مطالعات قبلی بیان این ژن در بافت‌های مختلف زیتون نیز بیانگر این بود که ایزوفرم *OeFAD3A* بیشترین بیان را در دانه و برگ‌های جوان زیتون داشت و رونوشت‌های آن در مزوکارپ میوه بسیار کم و تقریباً غیر قابل ردیابی بود (Hernández et al., 2016). همچنین بانیلاس و همکاران (Banilas et al., 2007)، نشان دادند که الگوهای بیان *OeFAD3* زیتون در بافت‌های مختلف دانه و مزوکارپ طی نمو میوه نشان از مشارکت حداقلی آن در بیوسنتز و اصلاح روغن زیتون دارد. بااین‌حال، مطالعات نشان داده است که بیان *FAD3* پیچیده بوده و به مرحله نموی گیاه وابسته است و از هورمون‌های گیاهی تأثیر می‌پذیرد (Banilas et al., 2007).

نتیجه‌گیری

تغییرات بیان لینولئات دساچورازهای *OeFAD7* و *OeFAD3* در مراحل نموی ارقام مختلف زیتون ایرانی و وارداتی در هر یک از بافت‌های دانه و مزوکارپ میوه، طی فرآیند نمو و رسیدگی میوه مورد

1- Canino
2- Frantoio
3- Moraiolo

4- Oleogenic

بررسی قرار گرفت. نتایج بیانگر تفاوت‌های معنی‌دار در بیان این ژن‌ها در مراحل مختلف رشدی، بافت‌های متفاوت و ارقام مختلف می‌باشد. براساس نتایج حاصل از این پژوهش نتیجه‌گیری می‌شود که ژن *OeFAD7* نقش مهمی در فرآیند غیر اشباع‌سازی اسیدهای چرب در بافت مزوکارپ میوه زیتون ایفا می‌کند، درحالی‌که ژن *OeFAD3* اهمیت بیشتری در این فرآیند در دانه میوه ایفا می‌کند. به‌طورکلی، داده‌های این پژوهش بیانگر تأثیر بالای این ژن‌ها در تجزیه لینولئیک روغن زیتون، و در نتیجه افزایش شاخص کیفی آن از نظر نسبت اسید اولئیک به اسید لینولئیک و اسید لینولنیک می‌باشد.

References

1. Azimi, M., Arji, A., Zeinanlo, A. A., Taslimpour, M. R., & Ramazani-Malekroodi, M. (2016). Evaluation of adaptability of some olive (*Olea europeae* L.) cultivars in different climates of Iran. *Seed and Plant Journal*, *1*(32), 275-292. (In Persian). https://doi.org/10.22092/spij.2016.112605
2. Banilas, G., Nikiforiadis, A., Makariti, I., Moressis, A., & Hatzopoulos, P. (2007). Discrete roles of a microsomal linoleate desaturase gene in olive identified by spatiotemporal transcriptional analysis. *Tree Physiology*, *27*(4), 481-90. https://doi.org/10.1093/treephys/27.4.481
3. Chen, G., Xing, Z. K., Pan, W. L., Bai, L. P., Ye, J. F., Ma, D. J., Wei, Z. P., Fan, J. G., & Guo, Z. F. (2011). Cloning of a novel stearoyl-acyl desaturase gene from white ash (*Fraxinus americana*) and evolution analysis with those from other plants. *African Journal of Biotechnology*, *10*, 18185-18193.
4. El Faqer, A., Rabeh, K., Alami, M., Filali-Maltouf, A., & Belkadi, B. (2024). *In silico* identification and characterization of fatty acid desaturase (*FAD*) Genes in *Argania spinosa* L. Skeels: Implications for oil quality and abiotic stress. *Bioinformatics and Biology Insights*, *5*(18), 11779322241248908. https://doi.org/10.1177/11779322241248908
5. Erfani-Moghadam, J., & Zarei, A. (2025) Calcium and silicon nanofertilizers improved morphological attributes and fatty acid composition in olive; an insight to synergistic interaction between these elements. *BMC Plant Biology*, *25*, 997. https://doi.org/10.1186/s12870-025-07027-2
6. Garrido, A., Conde, A., Serôdio, J., De Vos, R. C. H., & Cunha, A. (2023). Fruit photosynthesis: More to know about where, how and why. *Plants*, *12*(13), 2393. https://doi.org/10.3390/plants12132393
7. Gómez-González, S., Ruiz-Jiménez, J., & De Castro, M. D. L. (2011). Oil content and fatty acid profile of Spanish cultivars during olive fruit ripening. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *88*, 1737–1745. https://doi.org/10.1007/s11746-011-1840-x
8. Hernández, M. L., Guschina, I. A., Martı´nez-Rivas, J. M., Mancha, M., & Harwood, J. L. (2008). The utilization and desaturation of oleate and linoleate during glycerolipid biosynthesis in olive (*Olea europaea* L.) callus cultures. *Journal of Experimental Botany*, *59*, 2425–2435. https://doi.org/10.1093/jxb/ern121
9. Hernández, M. L., Sicardo, M. D., & Martínez-Rivas, J. M. (2016). Differential contribution of endoplasmic reticulum and chloroplast ω-3 fatty acid desaturase genes to the linolenic acid content of olive (*Olea europaea*) fruit. *Plant Cell Physiology*, *57*, 138–151. https://doi.org/10.1093/pcp/pcv159
10. Hernández, M. L., Sicardo, M. D., Belaj, A., & Martínez-Rivas, J. M. (2021). The oleic/linoleic acid ratio in olive (*Olea europaea* L.) fruit mesocarp is mainly controlled by OeFAD2-2 and OeFAD2-5 genes together with the different specificity of extraplastidial acyltransferase enzymes. *Frontiers in Plant Science*, *12*, 653997. https://doi.org/10.3389/fpls.2021.653997
11. International Olive Council (IOC). (2019). International trade standard applying to olive oils and olive-pomace oils. Available online at: https://www.internationaloliveoil.org/what-we-do/chemistry-standardisation-unit/standards-and-methods. June 27, 2020.
12. Kandylis, P., Vekiari, A. S., Kanellaki, M., Grati Kamoun, N., Msallem, M., & Kourkoutas, Y. (2011). Comparative study of extra virgin olive oil flavor profile of Koroneiki variety (*Olea europaea* var. Microcarpa alba) cultivated in Greece and Tunisia during one period of harvesting. *LWT - Food Science and Technology*, *44*(5), 1333-1341. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.12.021
13. Katsoyannos, E., Batrinou, A., Chatzilazarou, A., Bratakos, S. M., Stamatopoulos, K., & Sinanoglou, V. J. (2015). Quality parameters of olive oil from stoned and nonstoned Koroneiki and Megaritiki Greek olive varieties at different maturity levels. *Grasas Y Aceites*, *66*(1), e067. http://dx.doi.org/10.3989/gya.0711142
14. Leon, L., De La Rosa, R., Gracia, A., Barranco, D., & Rallo, L. (2008). Fatty acid composition of advanced olive selections obtained by cross breeding. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *88*, 1921–1926. https://doi.org/10.1002/jsfa.3296
15. Livak, K. J., & Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2 CT method. *Methods*, *25*, 402–408. https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262

16. Matteucci, M., D'Angeli, S., Errico, S., Lamanna, R., Perrotta, G., & Altamura, M. M. (2011). Cold affects the transcription of fatty acid desaturases and oil quality in the fruit of *Olea europaea* L. genotypes with different cold hardiness. *Journal of Experimental Botany*, *62*(10), 3403–3420. https://doi.org/10.1093/jxb/err013
17. Nishiuchi, T., Kodama, H., Yanagisawa, S., & Iba, K., (1999). Wound-induced expression of the FAD7 gene is mediated by different regulatory domains of its promoter in leaves/stems and roots. *Plant Physiology*, *21*, 1239–1246. https://doi.org/10.1104/pp.121.4.1239
18. Niu, E., Gao, S., Hu, W., Zhang, C., Liu, D., Shen, G., & Zhu, S. (2022). Genome-wide identification and functional differentiation of fatty acid desaturase genes in *Olea europaea* L. *Plants*, *11*, 1415. https://doi.org/10.3390/plants11111415
19. Parvini, F., Zeinanloo, A. A., Ebrahimie, E., Tahmasebi-Enferadi, S., & Hosseini-Mazinani, M. (2014) Differential expression of fatty acid desaturases in Mari and Shengeh olive cultivars during fruit development and ripening. *European Journal of Lipid Science and Technology*, *117*(4), 523-531. https://doi.org/10.1002/ejlt.201400327
20. Poghosyan, Z. P., Haralampidis, K., Martsinkovskaya, A. I., Murphy, D. J., & Hatzopoulos, P. (1999). Developmental regulation and spatial expression of a plastidial fatty acid desaturase from *Olea europaea*. *Plant Physiology and Biochemistry*, *37*(2), 109-119. https://doi.org/10.1016/S0981-9428(99)80072-2
21. Razeghi-Jahromi, F., Hosseini-Mazinani, M., Razavi, K., & Zarei, A. (2021). Analysis of fatty acid compositions and differential gene expression in two Iranian olive cultivars during fruit ripening. *Acta Physiologiae Plantarum*, *43*(3), 1-43. https://doi.org/10.1007/s11738-021-03218-0
22. Razeghi-Jahromi, F., Parvini, F., Zarei, A., & Hosseini-Mazinani, M. (2022). Sequence characterization and temporal expression analysis of different SADs and FAD2-2 genes in two Iranian olive cultivars. *Scientia Horticulturae*, *305*, 111415. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2022.111415
23. Razeghi-Jahromi, F., Zarei, A., Parvini, F., & Hosseini-Mazinani, M. (2022). Change in oil composition and the major fatty acids and triacylglycerol biosynthesis genes in drupe of selected olive cultivars during growing season; a two years study. *European Journal of Lipid Science and Technology*, *124*(12), 2200079. https://doi.org/10.1002/ejlt.202200079
24. Sabetta, W., Blanco, A., Zelasco, S., Lombardo, L., Perri, E., Mangini, G., & Montemurro, C. (2013). Fad7 gene identification and fatty acids phenotypic variation in an olive collection by EcoTILLING and sequencing approaches. *Plant Physiology and Biochemistry*, *69*, 1-8. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2013.04.007
25. Serrano, A., García-Martín, J., Moret, M., Martínez-Rivas, J. M., & Luque, F. (2024). Transcriptomic analysis during olive fruit development and expression profiling of fatty acid desaturase genes. *International Journal of Molecular Sciences*, *25*(20), 11150. https://doi.org/10.3390/ijms252011150
26. Sharma, A., & Chauhan, R. S. (2012). *In silico* identification and comparative genomics of candidate genes involved in biosynthesis and accumulation of seed oil in plants. *Comparative and Functional Genomics*, *2012*, 914843. https://doi.org/10.1155/2012/914843
27. Skodra, C., Titeli, V. S., Michailidis, M., Bazakos, C., Ganopoulos, I., Molassiotis, A., & Tanou, G. (2021). Olive fruit development and ripening: Break on through to the "-Omics" side. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(11), 5806. https://doi.org/10.3390/ijms22115806
28. Tous, J., & Vega, V. (2022). Chemical characterization of 'Arbequina' extra-virgin olive oils produced in different growing areas of Spain. *International Journal of Food Science and Agriculture*, *6*(3), 253-259. https://doi.org/10.26855/ijfsa.2022.09.003
29. Wallis, J. G., & Browse, J. (2002). Mutants of *Arabidopsis* reveal many roles for membrane lipids. *Progress in Lipid Research*, *41*, 254-278. https://doi.org/10.1016/s0163-7827(01)00027-3
30. Zarei, A., Erfani-Moghadam, J., Hashemi, S., & Shirmardi, A. (2023). Effect of foliar application of silicon and potassium nanoparticles on the fatty acid composition of olive oil cv. Zard. *Seed and Plant*, *39*, 597-619. (In Persian), https://doi.org/10.22092/spj.2024.366669.1375
31. Zhang, Z., Tong, Z., Shao, Y., Su, G., Li, K., & Li, C. (2024). Comparing and evaluating the oil composition of olive oil of 85 olive varieties in the Liangshan region, China. *Agronomy*, *14(*2), 304. https://doi.org/10.3390/agronomy14020304

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

Research Article
Vol. 40, No. 3, Fall 2026, p. 481-499

Increasing the Shelf Life of Button Mushroom (*Agaricus bisporus*) Using Bio-renewable Nano-Composite Coatings Based on Nano-Chitosan and Nano-Hydroxyapatite

Z. Ziaei Ghahnavieh[1], M. Raji[1*], A. Ehteshamnia[1], S. S. Sohrabi[2]

1- Department of Horticulture Sciences Engineering, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran
2- Department of plant Production and Genetic Engineering, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran

(*- Corresponding author's Email: raji.m@lu.ac.ir)

Received: 31 August 2025
Revised: 25 October 2025
Accepted: 18 November 2025
Available Online: 18 November 2025

How to cite this article:
Ziaei Ghahnavieh, Z., Raji, M., Ehteshamnia, A., & Sohrabi, S. S. (2026). Increasing the shelf life of button mushroom (*Agaricus bisporus*) using Biorenewable Nano-composite coatings based on Nano-chitosan and Nano-hydroxyapatite. *Journal of Horticultural Science*, *40*(3), 481-499. (In Persian). https://doi.org/10.22067/jhs.2025.94580.1448

Introduction

Today, the use of nano-composite and natural coatings for the production of healthy food products, preserving the environment and natural resources has become one of the most important challenges in agriculture in the world. In this regard, achieving an increase in the postharvest shelf life of food products by using healthy coatings is one of the methods that can be used to increase the post-harvest shelf life of food products. However, sometimes natural coatings cause changes in the taste of food products. Due to the high perishability of edible button mushrooms (*Agaricus bisporus*), their preservation is of particular importance. The use of natural coatings as a relatively new and simple technology is very effective in preventing undesirable changes in the quality of various products. Using natural coatings, the shelf life of products can be increased by minimizing changes in their color and textural characteristics. Natural and edible coatings are divided into protein, polysaccharide, lipid coatings, or a combination of them and can increase the shelf life of food products by delaying water loss, preserving aromatic compounds, reducing respiration, and delaying structural changes in the fruit. Therefore, the present study was aimed to evaluate the effect of a bio-composite coating based on nano-chitosan and nano-hydroxyapatite on the postharvest shelf life and quality attributes of button mushrooms.

Materials and Methods

Button mushrooms harvested from the second flush were transported to the laboratory as soon as possible, then washed with distilled water, their stems were shortened, and they were prepared for immersion in the studied treatments. The mushrooms that were prepared for coating were divided into 9 groups. One uncoated sample and 8 samples containing coatings with different percentages of nano-chitosan and nano-hydroxyapatite were prepared and coded. The mushrooms were immersed in each of the coating solutions for five minutes according to the desired treatment. The mushrooms were removed from the solutions and placed on a mesh basket (at laboratory temperature) for 15 to 30 minutes to allow excess coating material to drain. The mushrooms were then individually weighed and transferred six in triplicate into disposable plastic containers with perforated lids. They were then transferred to a refrigerator at 4 degrees Celsius. The control sample was immersed in distilled water for 5 minutes. For this purpose, the effect of these coatings was evaluated in a factorial experiment in a completely randomized design with three replications to prevent undesirable changes on the postharvest quality of edible button mushrooms at a temperature of 4 degrees Celsius. The experimental

Authors retain the copyright. This is an open access article distributed under Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0).
https://doi.org/10.22067/jhs.2025.94580.1448

treatments included coating edible button mushrooms with different concentrations of nano-chitosan (0, 1, and 2 percent) and nano-hydroxyapatite (0, 40, 80 mg) for 28 days. After coating, titratable acidity, malondialdehyde, soluble solids, and enzyme measurements such as catalase, peroxidase, ascorbate peroxidase, and polyphenol oxidase enzymes of the mushrooms were recorded and analyzed on days 0, 7, 14, 21, and 28 of storage. Means were compared using Duncan's multiple range test at a 5% probability level. SAS software was used for statistical analysis.

Results and Discussion

Based on the results, the highest titratable acidity, catalase enzyme and ascorbate peroxidase enzyme were obtained in the nano-chitosan coating treatment containing 40 mg of nano-hydroxyapatite compared to the control treatment and the highest malondialdehyde, soluble solids and polyphenol oxidase enzyme were obtained in the control treatment without coating during the storage days. The lowest malondialdehyde, soluble solids and polyphenol oxidase enzyme were also obtained in the nano-chitosan coating treatment containing 40 mg of nano-hydroxyapatite compared to the control treatment during the storage days. Finally, coating with 1% nano-chitosan containing 40 mg of nano-hydroxyapatite can increase the shelf life of button mushrooms up to 14 days after harvest.

Conclusion

Due to the high perishability of button mushroom, its maintenance is very important. One of the methods of preserving button mushrooms is the application of natural coatings. The purpose of this study is to evaluate the effect of natural coating based on nano-chitosan and nano-hydroxyapatite. For this purpose, the coating of nano-chitosan (zero, 1%, 2%), nano-hydroxyapatite (zero, 40, 80 mg), and the combination of nano-chitosan with nano-hydroxyapatite in the mentioned concentrations were used. Finally, according to the findings of this study, it can be stated that coating with 1% nano-chitosan containing 40 mg of nano-hydroxyapatite can increase the shelf life of button mushroom up to 14 days after harvesting, which remained marketable for this period. Therefore, using this coating is recommended to extend the commercial shelf life of button mushrooms.

Acknowledgement

The implementation of this research was registered in the Golestan system of Lorestan University website under number: 37182349, date: March 15, 2024, and was carried out with financial support from Lorestan University, Khorramabad, Iran. We hereby acknowledge their support.

Keywords: Different days of storage, Food safety, Nano-compounds, Natural coating

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

مقاله پژوهشی

جلد ۴۰، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۵، ص. ۴۹۹-۴۸۱

افزایش ماندگاری قارچ دکمه‌ای (*Agaricus bisporus*) با استفاده از پوشش‌های نانوکامپوزیتی زیست‌تجدیدپذیر مبتنی بر نانوکیتوزان و نانوهیدروکسی آپاتیت

زهرا ضیائی قهنویه[۱] - محمد رضا راجی[۱*] - عبدالله احتشام نیا[۱] - سید سجاد سهرابی[۲]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۶/۰۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۸/۲۷

چکیده

امروزه استفاده از پوشش‌های طبیعی برای تولید محصولات غذایی سالم و حفظ محیط‌زیست، یکی از مهم‌ترین چالش‌های کشاورزی در جهان است. ازاین‌رو پژوهش حاضر با هدف جایگزینی پوشش‌های نانوکامپوزیتی زیست‌تجدیدپذیر مبتنی بر نانوکیتوزان و نانوهیدروکسی آپاتیت بر افزایش زمان ماندگاری پس از برداشت قارچ دکمه‌ای (*Agaricus bisporus*) انجام شد. این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در دمای چهار درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. تیمارهای آزمایش شامل پوشش‌دهی قارچ دکمه‌ای با غلظت‌های مختلف نانوکیتوزان (صفر، یک و دو درصد) و نانوهیدروکسی آپاتیت (صفر، ۴۰، ۸۰ میلی‌گرم) به مدت ۲۸ روز بود. بعد از پوشش‌دهی، صفات اسیدیته قابل تیتراسیون، مالون دی‌آلدئید، مواد جامد محلول و اندازه‌گیری‌های آنزیمی مانند آنزیم کاتالاز، آنزیم پراکسیداز، آنزیم آسکوربات پراکسیداز و آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز قارچ‌ها در روزهای صفر، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ نگهداری یادداشت‌برداری و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. براساس نتایج حاصل از این پژوهش، بیش‌ترین میزان اسیدیته قابل تیتراسیون، آنزیم کاتالاز و آنزیم آسکوربات پراکسیداز در تیمار پوشش نانوکیتوزان یک درصد حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت ۴۰ میلی‌گرم طی روزهای نگهداری حاصل شد که نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری داشت. همچنین بیش‌ترین میزان مالون دی‌آلدئید، مواد جامد محلول و آنزیم پلی-فنل‌اکسیداز در شاهد بدون پوشش در طی روزهای نگهداری به دست آمد. کم‌ترین مقدار مالون دی‌آلدئید، مواد جامد محلول و آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز نیز در تیمار پوشش نانوکیتوزان یک درصد حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت ۴۰ میلی‌گرم در طی روزهای نگهداری حاصل شد که نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری داشت. در نهایت با توجه به یافته‌های این مطالعه می‌توان چنین اظهار نمود که پوشش‌دهی نانوکیتوزان یک درصد حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت ۴۰ میلی‌گرم می‌تواند ماندگاری پس از برداشت قارچ دکمه‌ای را تا ۲۸ روز افزایش دهد که تا ۱۴ روز قابلیت بازارپسندی دارد. بنابراین استفاده از این پوشش برای افزایش عمر انبارمانی قارچ دکمه‌ای توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: پوشش طبیعی، ترکیبات نانو، روزهای مختلف نگهداری، سلامت غذایی

مقدمه

قارچ دکمه‌ای سفید با نام علمی *Agraicus bisporus* یکی از معروف‌ترین قارچ‌های خوراکی دنیا می‌باشد که برای قرن‌های متمادی قسمتی از رژیم غذایی بشر بوده است (Usman et al., 2021). ارزش بالای غذایی، دارویی و اقتصادی قارچ دکمه‌ای از جمله عوامل اصلی افزایش تولید جهانی آن بوده است (Khazarai et al., 2016). بااین‌حال، این محصول پس از برداشت به‌سرعت با افت کیفیت مواجه می‌شود که این موضوع چالشی جدی در نگهداری و عرضه آن محسوب می‌گردد. قارچ دکمه‌ای پس از برداشت به‌دلیل قهوه‌ای شدن آنزیمی، از دست دادن رطوبت و آلودگی میکروبی در عرض سه تا پنج روز ارزش تجاری خود را از دست می‌دهد (Singh et al., 2021). در سال‌های اخیر، روش‌های مختلف نگهداری برای *A. bisporus* ایجاد شده است که دارای معایبی مانند سمیت بالقوه، هزینه بالا و ایجاد تغییرات نامطلوب در رنگ، بافت و طعم قارچ هستند (Liu et al., 2019). پوشش‌دهی سالم می‌تواند در جلوگیری از این مشکلات و افزایش ماندگاری محصول مؤثر باشد (Moradian et al., 2017).

۱- گروه مهندسی علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران

۲- گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران

(*- نویسنده مسئول: Email: raji.m@lu.ac.ir)

https://doi.org/10.22067/jhs.2025.94580.1448

امروزه استفاده از پوشش‌های طبیعی به‌عنوان یک فناوری به نسبت جدید و ساده در جلوگیری از تغییرات نامطلوب کیفی محصولات مختلف بسیار مؤثر می‌باشد (Qian et al., 2021). با استفاده از پوشش‌های طبیعی می‌توان عمر مفید محصولات را تا به حداقل رساندن تغییر در رنگ و ویژگی‌های بافتی آن‌ها افزایش داد (Nakilcioğlu-taş & Ötleş, 2020). پوشش‌های طبیعی و خوراکی بـه پوشش‌های پروتئینی، پلی‌ساکاریدی، لیپیدی و یا ترکیبی از آن‌ها تقسیم‌بندی می‌شوند و می‌توانند با به تأخیر انداختن کاهش ازدست‌دهی آب، حفظ ترکیبات معطر، کاهش تنفس و تأخیر در تغییرات ساختاری میوه موجب افزایش نگهداری محصولات غذایی شوند (Karimirad et al., 2020).

فناوری نانو یکی از مهم‌ترین اولویت‌های تحقیقاتی طی دهه اول قرن بیست و یکم محسوب می‌شود (Rezaei et al., 2015). مزیت اصلی فناوری نانو، بهره‌گیری از مواد در مقیاس نانومتری است. اهمیت این مقیاس تنها به کوچک بودن اندازه محدود نمی‌شود، بلکه به این دلیل است که با کاهش ابعاد مواد، خصوصیات ذاتی آن‌ها مانند رنگ و استحکام، دستخوش تغییرات منحصربه‌فردی می‌شود (Rezaei et al., 2015).

کیتوزان یک پلی‌ساکارید کاتیونی است که از استیل‌زدایی کیتین که جزء اصلی اسکلت بیرونی سخت‌پوستان و دومین پلی‌ساکارید فراوان در طبیعت است، به دست می‌آید (Elsabee & Abdou, 2013). نانوکیتوزان به‌دلیل زیست‌تخریب‌پذیری، زیست‌سازگاری و غیرسمی بودن به‌عنوان یک جزء ایده‌آل برای پوشش‌های طبیعی در نظر گرفته می‌شود. محصور کردن ترکیبات فعال زیستی در اندازه نانومتریک نشان‌دهنده یک تکنیک مزیت برای افزایش فعالیت بیولوژیکی آن‌ها است (Karimirad et al., 2020). نانوذرات کیتوزان به‌طورکلی دارای خواص مکانیکی خوب و نفوذپذیری انتخابی در برابر گازها است. علاوه‌بر این، ادغام ترکیبات ضدمیکروبی، ضدباکتری و یا آنتی‌اکسیدانی در پوشش نانوذرات کیتوزان می‌تواند خواص فیزیکی، مکانیکی و بیولوژیکی پوشش را بیش‌تر بهبود بخشد (Liu et al., 2019).

با توجه به حجم بالای تولید قارچ دکمه‌ای در کشور، استفاده از پوشش‌های تهیه‌شده از ضایعات زیستی، یک راهکار دومنظوره است. این روش هم می‌تواند به کاهش دورریز محصول کمک کند و هم با افزایش ماندگاری، بستر مناسبی را برای صادرات آن به مناطق دوردست فراهم آورد (Khazarai et al., 2016).

هیدروکسی آپاتیت با فرمول شیمیایی $Ca_{10}(Po_4)_6(OH)_2$ پایدارترین و زیست‌سازگارترین شکل فسفات کلسیم است که ماده معدنی اصلی استخوان انسان محسوب می‌شود (Sharifianjazi et al., 2021). در مقایسه با سایر فسفات‌های کلسیم، هیدروکسی آپاتیت یک ترکیب پایدارتر در شرایط فیزیولوژیکی مانند ترکیب مایعات بدن، دما و pH است (Victor Aberea et al., 2022). با توسعه فناوری تهیه نانومواد، امکان تولید نانوهیدروکسی آپاتیت با ریخت‌شناسی‌های گوناگون فراهم شده است. تحقیقات نشان می‌دهد که نانوذرات هیدروکسی آپاتیت مزایای بیش‌تری نسبت به هیدروکسی آپاتیت سنتی در زمینه دارورسانی دارد (Liu et al., 2024). نانوذرات هیدروکسی آپاتیت برای حفظ ساختار خود باید پایداری مکانیکی خوبی داشته باشد (Victor Aberea et al., 2022). هیدروکسی آپاتیت به‌دست‌آمده از منابع طبیعی یا ضایعات زیستی (مانند صدف، استخوان گاو، ماهی و شتر) در مقایسه با نمونه‌های مصنوعی، فعالیت متابولیکی و زیست‌فعالی بالاتری از خود نشان می‌دهد. مزیت بیش‌تر هیدروکسی آپاتیت مشتق‌شده طبیعی، وجود گروه‌های کربنات و سیترات و محتوای کم پتاسیم، سدیم، منیزیم و استرانسیم در ترکیب شیمیایی آن است. عامل مهم دیگری که باید در نظر گرفته شود، نسبت کلسیم به فسفر است. در آپاتیت مصنوعی، این نسبت معمولاً کمتر از نانوذرات هیدروکسی آپاتیت طبیعی است. با در نظر گرفتن همه این عوامل، نانوذرات هیدروکسی آپاتیت طبیعی منتخب بهتری برای کاربردهای پزشکی است (Sharifianjazi et al., 2021). نانوذرات هیدروکسی آپاتیت به‌عنوان ماده‌ای برای اصلاح در محل در نظر گرفته می‌شوند (Landa et al., 2024). نانوهیدروکسی آپاتیت همچنین به‌عنوان منبع فسفر معدنی برای گیاهان عمل می‌کند (Landa et al., 2024). براساس گزارش‌ها، نانوهیدروکسی آپاتیت در مقایسه با کودهای فسفری معمولی، کارآیی بالاتری داشته و اثرات زیست‌محیطی کمتری بر جای می‌گذارد (Landa et al., 2024).

در مطالعه‌ای، تأثیر پوشش‌دهی با کیتوزان و اسانس گیاه چویل (*Ferulago angulate*) بر ماندگاری قارچ دکمه‌ای بررسی شد و نتایج نشان داد که ساختار کیتوزان و خاصیت ضدمیکروبی و ترکیبات فنلی موجود در اسانس، علت اصلی حفظ کیفیت نمونه‌های قارچ در طی نگهداری بود (Ganjeh et al., 2020). در پژوهشی، اثر روغن زردچوبه (*Curcuma longa*) و نانوذرات کیتوزان حاوی روغن زردچوبه بر افزایش ماندگاری قارچ دکمه‌ای سفید در دمای چهار درجه سانتی‌گراد مورد ارزیابی قرار گرفت. به‌طورکلی، تیمار نانوذرات کیتوزان حاوی روغن زردچوبه، پذیرش کلی عمر میوه‌ها را تا روز ۱۵ حفظ کرد، امّا قارچ‌های دکمه‌ای شاهد قبل از روز دهم پذیرش خود را از دست دادند (Valizadeh et al., 2021). در مطالعه‌ای دیگر به بررسی اثر نانوذرات کیتوزان حاوی اسانس زیره سبز (*Cuminum cyminum*) بر ماندگاری قارچ دکمه‌ای طی ۲۰ روز نگهداری در

سردخانه پرداختند و نتیجه گرفتند که در مقایسه با نمونه‌های شاهد که پس از ۱۰ روز نگهداری کیفیت خود را از دست دادند، به کیفیت کلی قابل قبول تیمار نانوذرات کیتوزان حاوی اسانس زیره سبز اشاره شد (Karimirad et al., 2019).

با توجه به فسادپذیری بالای قارچ دکمه‌ای و ضایعات اقتصادی ناشی از آن، استفاده از پوشش‌های خوراکی طبیعی به‌عنوان یک راهکار ایمن و پایدار، اهمیت روزافزونی یافته است. دراین‌میان، پوشش‌های نانوکامپوزیتی به‌دلیل پتانسیل ایجاد اثرات هم‌افزایی، افق جدیدی را در افزایش ماندگاری محصولات کشاورزی گشوده‌اند. نانوکیتوزان به‌دلیل خواص ضدمیکروبی و توانایی تشکیل فیلم شناخته شده است، درحالی‌که نانوهیدروکسی آپاتیت به‌عنوان یک ماده زیست‌سازگار می‌تواند خواص مکانیکی و حفاظتی پوشش را تقویت کند. بااین‌حال، تاکنون تحقیقی جامع در مورد اثر ترکیبی این دو نانوماده بر حفظ کیفیت قارچ دکمه‌ای انجام نشده است. ازاین‌رو، پژوهش حاضر با هدف ارزیابی یک پوشش نانوکامپوزیتی نوین مبتنی بر نانوکیتوزان و نانوهیدروکسی آپاتیت طراحی شد تا تأثیر آن بر شاخص‌های کلیدی زوال محصول، یعنی فعالیت‌های آنزیمی (مانند پلی‌فنل اکسیداز) و پایداری غشای سلولی، به‌طور دقیق مورد بررسی قرار گیرد. نتایج این تحقیق می‌تواند به ارائه راهکاری عملی برای کاهش ضایعات پس از برداشت و افزایش ارزش افزوده این محصول مهم کمک نماید.

مواد و روش‌ها

ابتدا قارچ دکمه‌ای در مهرماه ۱۴۰۲ از کارگاه پرورش قارچ واقع در شهرک صنعتی استان لرستان تهیه شد. کیتوزان (با مشخصات وزن مولکولی: ۱۹۰–۳۱۰ کیلو دالتون براساس ویسکوزیته؛ ویسکوزیته: ۲۰۰–۸۰۰ cP؛ درجه استیلاسیون: ۷۵–۸۵ درصد)، و نانوهیدروکسی آپاتیت (با مشخصات وزن مولکولی: ۱۰۴/۶ گرم بر مول؛ اندازه ذرات: ۳۰–۱۰ نانومتر؛ چگالی ۳/۰۷ گرم بر سانتی‌مترمکعب) از شرکت تماد کالا تهران تهیه شد. سپس مراحل تیمار و پوشش‌دهی به‌شرح ذیل انجام شد.

تهیه محلول‌های پوشش‌دهی نانوکیتوزان

برای تهیه تیمار محلول پوشش‌دهی نانوکیتوزان، ابتدا باید محلول پوشش‌دهی کیتوزان تهیه شود. بنابراین برای تهیه محلول پوشش‌دهی کیتوزان یک درصد، ابتدا یک گرم پودر کیتوزان به ۹۹ میلی‌لیتر آب مقطر و یک میلی‌لیتر اسید استیک افزوده شد و هم زدن بدون حرارت‌دهی با دستگاه همزن مغناطیسی با سرعت متوسط حدود ۲۰۰ الی ۴۰۰ دور در دقیقه و به مدت دو ساعت انجام گردید و برای تهیه کیتوزان دو درصد هم به همین ترتیب انجام گرفت، با این تفاوت که دو گرم پودر کیتوزان اضافه شد. تهیه محلول پوشش‌دهی نانوکیتوزان یک درصد و دو درصد با افزودن ۰/۵ گرم پودر سدیم تری‌پلی‌فسفین در ۱۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل گردید و سپس در بورت ریخته شد و قطره قطره به محلول کیتوزان به‌ترتیب یک درصد و دو درصد اضافه شد و به‌طور مکرر سونیک با دستگاه سونیکاتور دارای توان بین ۱۰۰۰–۱۰۰ وات، فرکانس ۳۰–۲۰ کیلوهرتز و زمان قابل تنظیم از چند ثانیه تا چند دقیقه و هم‌زدن بدون حرارت‌دهی با دستگاه همزن مغناطیسی با سرعت متوسط حدود ۲۰۰ الی ۴۰۰ دور در دقیقه و به مدت دو ساعت انجام گردید (Karimirad et al., 2020). در نهایت pH محلول به ۵/۵ رسانده شد و سپس فقط محلول پوشش‌دهی نانوکیتوزان برای اعمال تیمار استفاده گردید. از دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی نشر میدان (FE-SEM, Mara3 Tescan, Czech Republic) برای بررسی اندازه نانو و خصوصیات ریخت‌شناختی نانوکیتوزان استفاده شد.

تهیه محلول پوشش‌دهی نانوهیدروکسی آپاتیت

نانوهیدروکسی آپاتیت در مقدار ۴۰ میلی‌گرم وزن گردید و سپس ۴۰ میلی‌گرم نانوهیدروکسی آپاتیت به ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر افزوده شد و برای حل شدن، استیرر (با دستگاه همزن مغناطیسی با سرعت متوسط حدود ۲۰۰ الی ۴۰۰ دور در دقیقه و به مدت دو ساعت) صورت گرفت. در نهایت غوطه‌وری قارچ‌ها در محلول به‌دست‌آمده و سه لیتر آب مقطر و اضافه کردن دو قطره (۰/۱ میلی‌لیتر) توین انجام شد. تهیه این محلول پوشش‌دهی برای غلظت نانوهیدروکسی آپاتیت ۸۰ میلی‌گرم نیز مانند غلظت ۴۰ میلی‌گرم انجام شد.

تهیه محلول‌های مخلوط نانوکیتوزان و نانوهیدروکسی آپاتیت

محلول پوشش‌دهی نانوکیتوزان یک درصد را با اضافه کردن پنج میلی‌لیتر توین ۸۰ درصد و ۰/۵ میلی‌لیتر گلیسرول ۸۵ درصد بار دیگر تهیه کرده و سپس ۱۰۰ میلی‌لیتر از آن را برداشته و با محلول ۴۰ میلی‌گرم پودر نانوهیدروکسی آپاتیت که ابتدا در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب حل شده بود، مخلوط کردیم و در نهایت درون سه لیتر آب مقطر حل کرده و دو قطره (۰/۱ میلی‌لیتر) توین به محلول اضافه شد. سپس برای غلظت نانوکیتوزان یک درصد حاوی ۸۰ میلی‌گرم نانوهیدروکسی آپاتیت نیز به همین ترتیب عمل کردیم. تهیه محلول میکس نانوکیتوزان دو درصد حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت به همین ترتیب صورت گرفت.

آماده‌سازی نمونه و پوشش‌دهی قارچ‌ها

قارچ‌های دکمه‌ای برداشت‌شده از برداشت دوم (با قطر کلاهک ۵-۴ سانتی‌متر، عدم باز شدن چتر زیر کلاهک، رنگ کلاهک سفید و فاقد لکه) در کم‌ترین زمان به آزمایشگاه انتقال داده شدند. سپس با آب مقطر شست‌وشو و ساقه آن‌ها کوتاه شد و برای غوطه‌وری در تیمارهای مورد مطالعه آماده شدند. قارچ‌هایی که برای پوشش‌دهی آماده شدند به نُه گروه تقسیم شدند. یک نمونه بدون پوشش و هشت نمونه حاوی پوشش با درصدهای متفاوت نانوکیتوزان و نانوهیدروکسی آپاتیت تهیه و کدگذاری شدند. قارچ‌ها به روش غوطه‌وری طبق تیمار مورد نظر، داخل هرکدام از محلول‌های پوشش‌دهی به مدت پنج دقیقه قرار گرفتند. قارچ‌ها از محلول‌ها خارج شدند و به مدت ۱۵ دقیقه روی سبد مشبک (در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفتند تا مقدار اضافه ماده پوشش‌دهنده چکه کند. سپس قارچ‌ها به‌صورت انفرادی توزین شده و تعداد شش عدد در سه تکرار درون ظروف پلاستیکی بسته‌بندی یک‌بارمصرف دارای درب سوراخ‌دار منتقل شدند. سپس به یخچال با دمای چهار درجه سانتی‌گراد منتقل گردید. نمونه شاهد به مدت پنج دقیقه داخل آب مقطر غوطه‌ور شد.

عصاره‌گیری برای آنزیم‌ها

برای عصاره‌گیری از بافر استخراج (شامل بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار و EDTA یک میلی‌مولار، با pH برابر هفت) استفاده شد. به هر ۰/۲ گرم از نمونه، دو میلی‌لیتر از این بافر اضافه گردید و سپس با دور ۱۴۰۰۰ به مدت ۲۰ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شده و مایع رویی برای شناسایی فعالیت آنزیمی جدا گردید.

فعالیت آنزیم کاتالاز

فعالیت آنزیم کاتالاز به‌روش گالیگو و همکاران (Gallego et al., 1996) اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم کاتالاز با اندازه‌گیری کاهش جذب در ۲۴۰ نانومتر در محیط واکنش حاوی ۴۰۰ میکرولیتر بافر فسفات (۵۰ میلی‌مولار) و (pH= ۷/۲) و ۳۰۰ میکرولیتر H_2O_2 و ۵۰ میکرولیتر از عصاره نمونه مورد نظر به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر به مدت دو دقیقه تعیین شد. ثابت واکنش ε برابر با ۳۹/۴ لیتر بر مول در سانتی‌متر می‌باشد و محتوای واحد آنزیمی میکرومول بر دقیقه بر میلی‌گرم گیاه تر طبق معادله ۱ محاسبه شد.

$$\left(\frac{(A2-A1)}{(t2-t1)}\right)\times\frac{Vt}{Vs\times E} \qquad (۱)$$

که در آن، Vt: حجم نهایی محلول و Vs: حجم عصاره آنزیمی می‌باشد.

فعالیت آنزیم پراکسیداز

فعالیت آنزیم پراکسیداز براساس روش پلیوا و همکاران (Plewa et al., 1991) انجام شد. فعالیت آنزیم پراکسیداز با اندازه‌گیری افزایش جذب در ۴۷۰ نانومتر در محیط واکنش حاوی ۱۲۰۰ میکرولیتر بافر فسفات (۵۰ میلی‌مولار و pH=۷/۲)، ۵۰ میکرولیتر H_2O_2، ۵۰ میکرولیتر گایاکول و ۵۰ میکرولیتر از عصاره نمونه مورد نظر به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر به مدت دو دقیقه تعیین شد. ثابت واکنش ε برابر با ۲۶/۶ لیتر بر مول در سانتی‌متر می‌باشد و محتوای پراکسیداز براساس واحد آنزیمی میکرومول بر دقیقه بر میلی‌گرم گیاه تر طبق معادله ۱ محاسبه گردید.

آنزیم آسکوربات پراکسیداز

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز براساس روش اسادا (Asada, 1992) انجام شد. فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز با اندازه‌گیری کاهش جذب در ۲۹۰ نانومتر در محیط واکنش حاوی ۱۵۰۰ میکرولیتر بافر استخراج بدون آسکوربات، ۳۰۰ میکرولیتر بافر محتوای آسکوربات سه میکرولیتر H_2O_2 و ۲۰ میکرولیتر از عصاره نمونه مورد نظر به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر به مدت دو دقیقه تعیین شد. ثابت واکنش ε برابر با ۲/۸ لیتر بر مول در سانتی‌متر می‌باشد و محتوای آسکوربات پراکسیداز براساس واحد آنزیمی میکرومول بر دقیقه بر میلی‌گرم گیاه تر طبق معادله ۱ محاسبه گردید.

فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز

فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز براساس روش کار و میشرا (Kar & Mishra, 1976) انجام شد. از پیروگالل به‌عنوان پیش‌ماده آنزیم استفاده گردید. مخلوط واکنش شامل یک میلی‌لیتر بافر فسفات (pH= ۷) ۵۰ میلی‌مولار و ۲۰۰ میکرولیتر پیروگالل ۰/۰۲ مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی است. فعالیت آنزیم توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۲۰ نانومتر با اندازه‌گیری کاهش جذب پس از دو دقیقه با اضافه کردن پیروگالل به مخلوط واکنش براساس وزن به‌عنوان واحد میکرومول بر دقیقه بر میلی‌گرم گیاه تر تعیین شد (معادله ۲).

$$PPO\ activity=\frac{A420\times Vt\times df}{\varepsilon\times L\times T\times Vs} \qquad (۲)$$

که در آن، A420: اختلاف مقدار جذب محلول، Vt: حجم محلول واکنش، df: عامل رقیق‌کننده، T: طول زمان واکنش، Vs:

حجم نمونه، ε: ضریب خاموشی ۳/۶ لیتر بر مول در سانتی‌متر، L: مسافت طی‌شده توسط نور از محل واکنش می‌باشد.

مالون دی‌آلدئید

اندازه‌گیری محتوای مالون دی‌آلدئید براساس روش استیوارت و بیولی (Stewart & Bewley, 1980) انجام گرفت. برای این منظور، ۰/۵ گرم بافت تازه قارچ با اسید تری‌کلرو استیک ۰/۱ درصد کوبیده شد و به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. یک میلی‌لیتر از محلول رویی برداشته و به آن یک میلی‌لیتر محلول ۰/۵ درصد وزنی به حجم اسید تیوباربیوتیک دارای اسید تری‌کلرو استیک ۲۰ درصد اضافه شد. نمونه‌ها در حمام آب گرم در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفتند. پس از سرد شدن، جذب آن‌ها در طول موج‌های ۴۵۰ و ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر قرائت شد. محتوای مالون دی‌آلدئید در قارچ محاسبه و برحسب میکرومول در کیلوگرم وزن تازه بیان شد (معادله ۳).

$$MDA = 6.45(OD_{532} - OD_{600}) - 0.56(OD_{450}) \qquad (۳)$$

مقدار مواد جامد محلول (TSS)

مواد جامد محلول توسط دستگاه رفرکترومتر (ATAGO master5EM، ساخت کشور ژاپن) اندازه‌گیری شد. روش کار بدین صورت بود که عصاره قارچ‌های هر تیمار (با رنده کردن بر روی پارچه‌ای تمیز و سفید و فشردن پارچه برای خروج عصاره) تهیه گردید و دو سی‌سی عصاره روی حسگر دستگاه قرار گرفت و عدد مذکور یادداشت شد. پیش از شروع به کار، رفرکتومتر با آب مقطر کالیبره گردید. پس از هر بار قرائت به دقت رفرکتومتر تمیز شد تا از خطا جلوگیری گردد. میزان مواد جامد محلول برحسب درصد (درجه بریکس) بیان گردید (Jiang et al., 2012).

اسیدیته قابل تیتراسیون (TA)

برای اندازه‌گیری اسیدیته قابل تیتراسیون از روش تیتراسیون استفاده شد. ابتدا عصاره قارچ‌ها (با رنده کردن بر روی پارچه‌ای تمیز و سفید و فشردن پارچه برای خروج عصاره) گرفته شد. محتوای مواد واکنش حاوی ۱۰ میلی‌لیتر از عصاره، ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر و دو قطره (۰/۱ میلی‌لیتر) فنل فتالئین بود. سپس با سود ۰/۱ نرمال تیتر و اسیدیته عصاره به‌وسیله دستگاه pH متر قرائت شد. اسیدیته محلول حاصل با استفاده از سود ۰/۱ نرمال تا رسیدن به اسیدیته ۸/۲ تیتر گردید. اسیدیته قابل تیتراسیون طبق معادله ۴ محاسبه شد و نتایج برحسب گرم اسید سیتریک در ۱۰۰ گرم بیان شد (Hamzeh-kalkenari et al., 2020).

(۴)

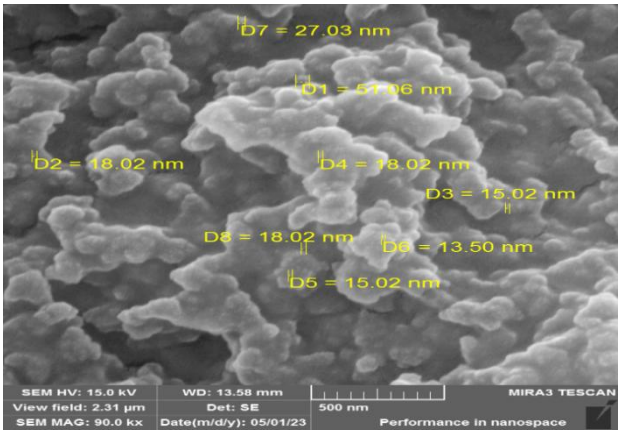
$$TA = \frac{(\text{حجم سود مصرفی} \times \text{اکی والان اسید غالب} \times \text{نرمالیته سود مصرفی}) \times 1000}{(\text{حجم نمونه تیتر شده})}$$

طرح آماری و تجزیه داده‌ها

آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. اندازه‌گیری داده‌ها در روزهای صفر، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ انجام گرفت. مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد. از نرم‌افزار SAS جهت تجزیه و تحلیل آماری استفاده گردید.

نتایج و بحث

ریخت‌شناسی نانوکیتوزان توسط یک میکروسکوپ الکترونی روبشی نشر میدان (FESEM) آنالیز شد. تصاویر FESEM از نانوکیتوزان یک شکل کروی و توزیع منظم را نشان دادند. اندازه متوسط نانوکیتوزان بین ۱۳ و ۵۱ نانومتر توزیع شد (شکل ۱).



شکل ۱- تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری (FESEM) از نانوکیتوزان تهیه‌شده

Figure 1- FESEM micrograph of prepared nano-chitosan

جدول ۱، نتایج تجزیه واریانس اثر نانوکیتوزان و نانوهیدروکسی آپاتیت بر صفات آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، پلی‌فنل‌اکسیداز، مالون دی‌آلدئید، مواد جامد محلول و اسیدیته قابل تیتراسیون را بر ماندگاری پس از برداشت قارچ دکمه‌ای نشان می‌دهد. براساس نتایج این جدول اثرات یگانه، دوگانه و اثر سه‌گانه تیمارها بر صفات ذکرشده بر عمر ماندگاری قارچ دکمه‌ای در سطح یک درصد معنی‌دار شد.

آنزیم کاتالاز (CAT)

همان‌طور که در نمودار شکل ۲ نشان داده شده است، کاهش تدریجی آنزیم کاتالاز در قارچ‌های بدون پوشش و پوشش داده‌شده در طول نگهداری مشاهده شد. بااین‌وجود، استفاده از پوشش‌های نانوهیدروکسی آپاتیت به‌تنهایی یا همراه با نانوکیتوزان منجر به افزایش سطوح آنزیم کاتالاز در مقایسه با گروه شاهد (بدون پوشش) شد. بیش‌ترین میزان آنزیم کاتالاز در تیمار نانوکیتوزان یک درصد حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت ۴۰ میلی‌گرم روز صفر نگهداری (به‌میزان ۰/۰۲۳۴) بود که تفاوت معنی‌داری با سایر پوشش‌ها به‌جز تیمار نانوکیتوزان یک درصد و نانوکیتوزان یک درصد حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت ۸۰ میلی‌گرم روز صفر نگهداری داشت. به‌طور خاص، در تمام روزهای نگهداری به‌جز روز صفر، گروه شاهد بدون پوشش کم‌ترین آنزیم کاتالاز را نشان داد و در روز ۲۸ نگهداری به‌میزان کم‌تر ۰/۰۰۲۴۳ شد که با کم‌ترین تیمار سایر روزهای نگهداری تفاوت معنی‌داری را نشان داد. در مقابل، نمونه تیمارشده با پوشش نانوکیتوزان یک درصد حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت ۴۰ میلی‌گرم بیش‌ترین آنزیم کاتالاز را نشان داد که تأثیر قابل توجهی از تیمار ترکیبی نانوکیتوزان با غلظت یک درصد و نانوهیدروکسی آپاتیت را برجسته می‌کند.

کاتالاز یک آنزیم آنتی‌اکسیدانی کلیدی در سیستم‌های حفاظتی گیاهان است. سلول‌های هوازی گیاه در برابر تنش، گونه‌های فعال اکسیژن مثل H_2O_2 تولید می‌کنند. فعالیت کاتالاز در برابر تنش‌ها در گیاهان به‌صورت سیستم دفاعی افزایش می‌یابد (Meng et al., 2017). تغییرات فعالیت آنزیم کاتالاز، که بیانگر میزان تجزیه آب اکسیژنه (H_2O_2) به آب و اکسیژن است، نقش مهمی در محافظت در برابر تنش اکسیداتیو ایفا می‌کند و در نتیجه به حفظ هموستاز ردوکس سلولی کمک می‌کند (Hu et al., 2015).

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر کاربرد نانوکیتوزان و نانوهیدروکسی آپاتیت برصفات بیوشیمیایی قارچ دکمه‌ای در دوره پس از برداشت

Table 1- ANOVA for the effects of chitosan nanoparticles and hydroxyapatite nanoparticles on biochemical traits of button mushrooms during the postharvest period

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	کاتالاز Catalase	پراکسیداز Peroxidase	آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase	پلی‌فنل اکسیداز Polyphenol oxidase
روز Day	4	0.00066**	0.0033**	6724906.12**	0.00027**
نانوکیتوزان Nanochitosan	2	0.00062**	0.0014**	20992698.41**	0.0012**
نانوهیدروکسی آپاتیت Nanohydroxyapatite	2	0.000037**	0.00022**	1878188.82**	0.00062**
روز × نانوکیتوزان Day × nanochitosan	8	0.000022**	0.000074**	523558.00**	0.00017**
روز × نانوهیدروکسی آپاتیت Day × nanohydroxyapatite	8	0.0000060**	0.000044**	174419.54**	0.00013**
نانوکیتوزان × نانوهیدروکسی آپاتیت Nanochitosan × nanohydroxyapatite	4	0.0000025**	0.0000016**	1113641.16**	0.00025**
روز × نانوکیتوزان × نانوهیدروکسی آپاتیت Day × nanochitosan × nanohydroxyapatite	16	0.00000044**	0.0000096**	70171.11**	0.000086**
خطا Error	90	0.00000008	0.00000007	1.04	0.00000006
ضریب تغییرات C.V (%)	-	1.85	0.72	0.025	1.01

*، ** و ns: به‌ترتیب در سطح احتمال یک و پنج درصد معنی‌دار هستند و معنی‌دار نیستند.

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

ادامه جدول ۱- تجزیه واریانس اثر کاربرد نانوکیتوزان و نانوهیدروکسی آپاتیت بر صفات بیوشیمیایی قارچ دکمه‌ای طی دوره پس از برداشت

Table 1 Continued- ANOVA for the effects of chitosan nanoparticles and hydroxyapatite nanoparticles on biochemical traits of button mushrooms during the postharvest period

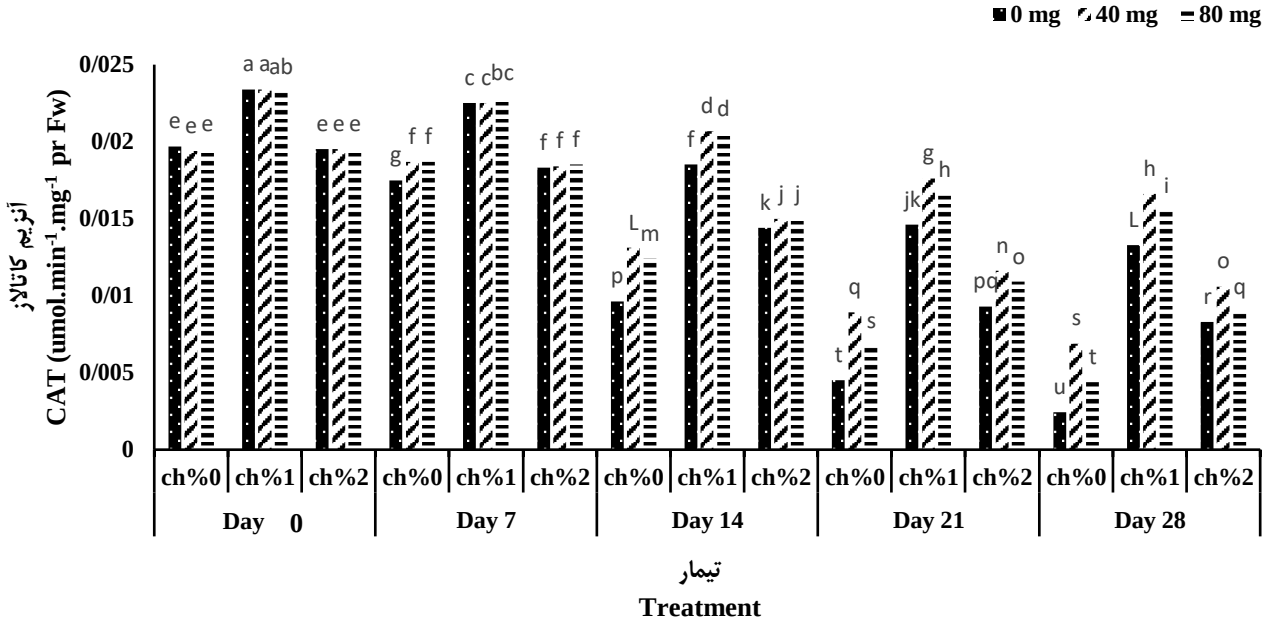
منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	مالون دی‌آلدئید Malondialdehyde	مواد جامد محلول Total suspended solids	اسیدیته قابل تیتراسیون Titratable acidity
روز Day	4	0.00047**	75.38**	0.091**
نانوکیتوزان Nanochitosan	2	0.00012**	7.53**	0.021**
نانوهیدروکسی آپاتیت Nanohydroxyapatite	2	0.000057**	32.87**	0.0047**
روز × نانوکیتوزان Day × nanochitosan	8	0.000012**	2.34**	0.0026**
روز × نانوهیدروکسی آپاتیت Day × nanohydroxyapatite	8	0.0000079**	4.27**	0.0017**
نانوکیتوزان × نانوهیدروکسی آپاتیت Nanochitosan × nanohydroxyapatite	4	0.000011**	1.14**	0.00049**
روز × نانوکیتوزان × نانوهیدروکسی آپاتیت Day × nanochitosan × Nanohydroxyapatite	16	0.0000011**	1.94**	0.0024**
خطا Error	90	0.00000007	0.12	0.000056
ضریب تغییرات C.V (%)	-	2.92	6.14	3.59

*، ** و ns: به‌ترتیب در سطح احتمال یک و پنج درصد معنی‌دار هستند و معنی‌دار نیستند.

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

در آزمایشی توسط کیان و همکاران (Qian et al., 2021)، بر روی افزایش عمر انبارداری قارچ دکمه‌ای، فعالیت کاتالاز در قارچ‌های شاهد در طول نُه روز اولیه افزایش یافت، پس از آن نسبت به بقیه نگهداری کاهش یافت، درحالی‌که فعالیت کاتالاز در نمونه‌های تیمارشده با ارگوتیونئین در طول ۱۳ روز اولیه کاهش یافت و در آخرین دوره نگهداری کمی افزایش یافت. تیمار ارگوتیونئین منجر به فعالیت کمتر کاتالاز در مقایسه با قارچ‌های شاهد در بیش‌تر طول دوره انبارداری شد. طی مطالعه‌ای روی افزایش عمر ماندگاری قارچ دکمه‌ای در بسته‌بندی‌های پلی‌اتیلنی و نانوکامپوزیت با پوشش اسانس خوشاریزه (*Echinophora cinerea*) نشان داد که هرچند فعالیت کاتالاز در طول دوره نگهداری روند افزایشی داشته است، ولی افزایش فعالیت این آنزیم از روز پانزدهم شدت گرفته است و در بسته‌بندی پلی‌اتیلنی این آنزیم از روز سی‌ام کاهش فعالیت نشان داده است که می‌تواند ناشی از کاهش فعالیت این آنزیم در تجزیه H_2O_2 و به‌دلیل وقوع فرآیند پیری در نمونه‌های قارچ بسته‌بندی‌شده در فیلم‌های پلی‌اتیلنی باشد. درحالی‌که فعالیت آنزیم کاتالاز در هر دو نوع بسته‌بندی با غلظت ۵۰ میکرولیتر در لیتر اسانس خوشاریزه از روز بیست و پنجم فعالیت ثابتی داشته است، ولی با غلظت ۱۰۰ میکرولیتر در لیتر فعالیت آنزیم کاتالاز همچنان روند رو به بالایی داشته است (Hamzeh-Kalkenari et al., 2020). در مطالعه‌ای که توسط لیو و همکاران (Liu et al., 2019) انجام شد، فعالیت کاتالاز قارچ‌های بسته‌بندی‌شده با لایه‌های پلی‌اتیلن (PE) و کیتوزان (CS) در شش روز اول نگهداری افزایش و پس از آن کاهش یافت. نتایج مشابهی توسط سایر محققان نیز مشاهده شد (Ding et al., 2016; Dokhanieh & Aghdam, 2016).

نتایج تحقیق حاضر نشان‌دهنده یک روند کاهشی کلی در فعالیت کاتالاز بود. این یافته با برخی مطالعات که در آن‌ها فعالیت کاتالاز در روزهای ابتدایی افزایش می‌یابد (Hamzeh-Kalkenari et al., 2020; Liu et al., 2019)، متفاوت است. این تفاوت ممکن است به‌دلیل نوع پوشش استفاده‌شده، شرایط نگهداری متفاوت یا فیزیولوژی خاص قارچ دکمه‌ای باشد. بااین‌حال، یافته ما مبنی بر اینکه تیمار پوششی فعالیت آنزیم را نسبت به شاهد بالاتر نگه می‌دارد، با هدف کلی این پژوهش‌ها در راستای کاهش زوال محصول هم‌خوانی دارد.



شکل ۲- اثر سه‌گانه پوشش نانوکیتوزان × نانوهیدروکسی آپاتیت × زمان پس از برداشت بر میزان آنزیم کاتالاز نمونه‌های قارچ دکمه‌ای

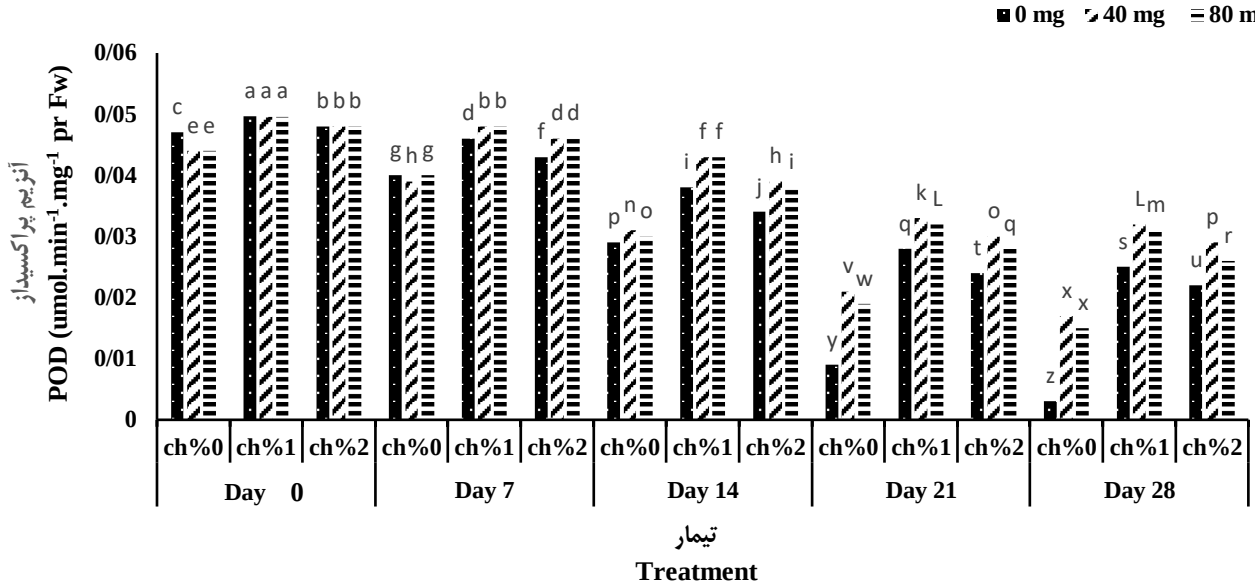
Figure 2- Triple effect of chitosan nanoparticle coating (ch) × hydroxyapatite nanoparticle × postharvest time on catalase enzyme activity in button mushroom samples (DMRT, $p \leq 0.05$)

آنزیم پراکسیداز (POD)

همان‌طور که در نمودار شکل ۳ نشان داده شده است، کاهش تدریجی آنزیم پراکسیداز در قارچ‌های بدون پوشش و پوشش داده‌شده در طول دوره نگهداری مشاهده گردید. بااین‌وجود، استفاده از پوشش‌های نانوهیدروکسی آپاتیت به‌تنهایی یا همراه با نانوکیتوزان منجر به افزایش سطوح آنزیم پراکسیداز در مقایسه با گروه شاهد (بدون پوشش) شد. بیش‌ترین میزان آنزیم پراکسیداز در تیمار نانوکیتوزان یک درصد حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت ۴۰ میلی‌گرم در طی روزهای نگهداری به دست آمد. به‌طور خاص، در تمام روزهای نگهداری به‌جز روز صفر و هفت، گروه شاهد بدون پوشش کم‌ترین آنزیم پراکسیداز را نشان داد و در روز ۲۸ نگهداری نسبت به سایر روزها کم‌تر بود (به‌میزان ۰/۰۰۳) که با کم‌ترین تیمار سایر روزهای نگهداری تفاوت معنی‌داری را نشان داد. در مقابل، نمونه تیمارشده با پوشش نانوکیتوزان یک درصد حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت ۴۰ میلی‌گرم بیش‌ترین آنزیم پراکسیداز را نشان داد که تأثیر قابل توجه تیمار ترکیبی نانوکیتوزان با غلظت یک درصد و نانوهیدروکسی آپاتیت را برجسته می‌کند.

ویژگی‌های کیفی و پوسیدگی قارچ ممکن است تحت تأثیر تغییرات آنزیمی مختلف در ترکیبات شیمیایی قرار گیرد. همچنین آنزیم پراکسیداز می‌تواند بر بو و طعم تأثیر بگذارد و کیفیت غذایی و تغذیه‌ای قارچ را بدتر کند (Nasiri et al., 2019). فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نقش مهمی در حفظ تعادل اکسیژن فعال در بدنه قارچ دارد (Wang et al., 2021). در پژوهش حاضر، فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمارهای پوشش‌دهی قارچ دکمه‌ای با نانوکیتوزان و نانوهیدروکسی‌آپاتیت، نسبت به شاهد افزایش یافت. این نتیجه در نگاه نخست با برخی گزارش‌های پیشین که کاهش فعالیت این آنزیم را در اثر پوشش‌های خوراکی گزارش کرده‌اند، مغایرت دارد. بااین‌حال، بررسی‌های اخیر نشان می‌دهد که افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله پراکسیداز می‌تواند نشانگر فعال شدن سامانه دفاعی محصولات تازه در برابر تنش‌های اکسیداتیو و مکانیکی ناشی از پوشش‌دهی باشد و ارتباط مستقیمی با حفظ کیفیت و افزایش عمر ماندگاری دارد. نانوکیتوزان و نانوهیدروکسی‌آپاتیت به‌عنوان پوشش‌های زیست‌سازگار دارای ویژگی آنتی‌میکروبی و القاکننده پاسخ‌های دفاعی شناخته شده‌اند. تماس سطحی قارچ با این نانوذرات می‌تواند موجب تحریک بیان ژن‌های کدکننده پراکسیداز و سایر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شود و از این طریق، ظرفیت قارچ برای تجزیه پراکسید هیدروژن و دیگر گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) افزایش یابد. در نتیجه، فرآیندهای تخریبی مانند قهوه‌ای شدن آنزیمی و افت بافت به‌طور مؤثری به تعویق می‌افتد (Huang et al., 2021). مطالعه هانگ و همکاران (Huang et al., 2021) نشان داد که پوشش نانوکیتوزان در غلظت‌های بهینه، فعالیت پراکسیداز و کاتالاز را در قارچ دکمه‌ای به‌طور معنی‌داری افزایش داده و این امر با کاهش

فساد و حفظ ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی محصول همراه بوده است. همچنین ریویدران و همکاران (Ravindran et al., 2020)، گزارش کردند که تیمارهای پوشش‌دهی نانویی برپایه بیوپلیمر، با برانگیختن فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، تغییرات فیزیولوژیکی را تعدیل کرده و عمر انباری قارچ را به‌طور چشمگیری افزایش داده‌اند. بر این اساس، نتایج به‌دست‌آمده در این تحقیق نه‌تنها قابل توجیه است، بلکه نشان‌دهنده کارآمدی پوشش‌های به‌کاررفته در القای سازوکارهای دفاعی و حفظ کیفیت قارچ دکمه‌ای محسوب می‌شود.



شکل ۳- اثر سه‌گانه پوشش نانوکیتوزان × نانوهیدروکسی آپاتیت × زمان پس از برداشتبر میزان آنزیم پراکسیداز در نمونه‌های قارچ دکمه‌ای
Figure 3- Triple effect of chitosan nanoparticle coating (ch) × hydroxyapatite nanoparticle × postharvest time on the level of peroxidase enzyme in button mushroom samples (DMRT, $p\leq0.05$)

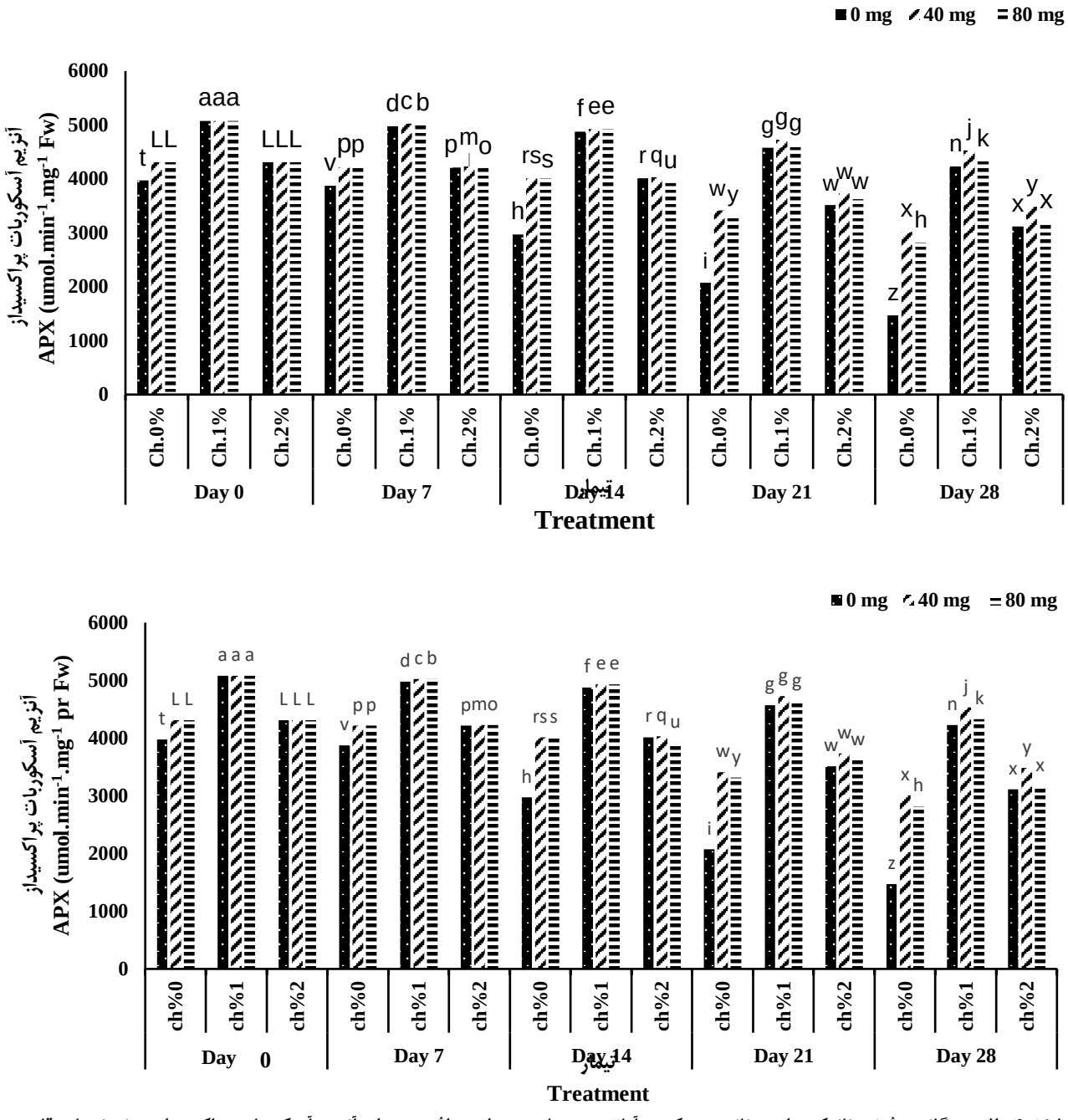
آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX)

مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف طی روزهای نگهداری بر آنزیم آسکوربات پراکسیداز قارچ دکمه‌ای (شکل ۴) نشان داد که، کاهش تدریجی آنزیم آسکوربات پراکسیداز در قارچ‌های بدون پوشش و پوشش داده‌شده در طول نگهداری مشاهده شد. بااین‌وجود، استفاده از پوشش‌های نانوهیدروکسی آپاتیت به‌تنهایی یا همراه با نانوکیتوزان منجر به افزایش سطوح آنزیم آسکوربات پراکسیداز در مقایسه با گروه شاهد (بدون پوشش) شد. بیش‌ترین میزان آنزیم آسکوربات پراکسیداز مربوطه به تیمار نانوکیتوزان یک درصد حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت ۴۰ میلی‌گرم روز صفر نگهداری (به‌میزان ۵۰۷۸/۴۴) بود که تفاوت معنی‌داری با سایر پوشش‌ها به‌جز تیمار نانوکیتوزان یک درصد و نانوکیتوزان یک درصد حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت ۸۰ میلی‌گرم روز صفر نگهداری داشت. به‌طور خاص، در تمام روزهای نگهداری، گروه شاهد بدون پوشش کم‌ترین آنزیم آسکوربات پراکسیداز را نشان داد. و در روز ۲۸ نگهداری نسبت به سایر روزها به‌میزان کم‌تر (۱۴۷۱/۳۸) مشاهده شد و با کم‌ترین تیمار سایر روزهای نگهداری تفاوت معنی‌داری را نشان داد. در مقابل، نمونه تیمارشده با پوشش نانوکیتوزان یک درصد حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت ۴۰ میلی‌گرم بیش‌ترین آنزیم آسکوربات پراکسیداز را نشان داد که تأثیر قابل توجه تیمار ترکیبی نانوکیتوزان با غلظت یک درصد و نانوهیدروکسی آپاتیت را برجسته می‌کند. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نقش مهمی در فرآیند رسیدن و پیری قارچ دارند.

نتایج مطالعه‌ای که روی بهبود کیفیت قارچ‌های خوراکی با میکروکپسول حاوی اسانس دارچین انجام شد، نشان داد که در طول دوره نگهداری، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز ابتدا برای همه گروه‌ها افزایش و سپس کاهش یافت. فعالیت این آنزیم در روز دوم نگهداری به حداکثر رسید. هنگ 0 که نسبت نشاسته به میکروکپسول ۱:۵ بود، آنزیم آسکوربات پر سیداز به بالاترین فعالیت رسید که ۱۴/۷۳ مول بر دقیقه بر گرم بود. فعالیت آنتی‌اکسیدانی قارچ‌های تیمارشده با کاغذ پوشش داده‌شده با میکروکپسول به‌طور قابل توجهی در مقایسه با شاهد افزایش یافت. نتایج فوق نشان می‌دهد که انتشار اسانس دارچین می‌تواند فعالیت این آنزیم آنتی‌اکسیدانی را تقویت کرده و پیری بافت را به تأخیر بیندازد (Shao et al., 2021).

نتایج این پژوهش نشان‌دهنده روند کاهشی کلی فعالیت آسکوربات پراکسیداز بود. این یافته با برخی مطالعات که در آن‌ها فعالیت آسکوربات پراکسیداز در روزهای ابتدایی ابتدا افزایش و سپس

کاهش می‌یابد (Shao et al., 2021)، متفاوت است. این تفاوت ممکن است به‌دلیل نوع پوشش استفاده‌شده، شرایط نگهداری متفاوت یا فیزیولوژی خاص قارچ دکمه‌ای باشد. بااین‌حال، یافته ما مبنی بر اینکه تیمار پوششی فعالیت آنزیم را نسبت به شاهد بالاتر نگه می‌دارد، با هدف کلی این پژوهش‌ها در راستای کاهش زوال محصول هم‌خوانی دارد.



شکل ۴- اثر سه‌گانه پوشش نانوکیتوزان × نانوهیدروکسی آپاتیت × زمان پس از برداشتبر میزان آنزیم آسکوربات پراکسیداز در نمونه‌های قارچ دکمه‌ای

Figure 4- Triple effect of chitosan nanoparticle coating (ch) × hydroxyapatite nanoparticle × postharvest time on the level of ascorbate peroxidase enzyme in button mushroom samples (DMRT, $p \leq 0.05$)

آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز (PPO)

با توجه به نتایج مقایسه‌های میانگین (شکل ۵)، ابتدا افزایش تدریجی تا روز ۱۴ و سپس روند کاهشی و ثابت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز در قارچ‌های بدون پوشش و پوشش داده‌شده در طول نگهداری مشاهده شد. بااین‌وجود، استفاده از پوشش‌های نانوهیدروکسی آپاتیت به‌تنهایی یا همراه با نانوکیتوزان منجر به کاهش سطوح آنزیم پلی-فنل‌اکسیداز در مقایسه با گروه شاهد (بدون پوشش) شد. بیش‌ترین میزان آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز مربوطه به تیمار بدون پوشش روز ۲۸ نگهداری (به‌میزان ۰/۰۶۲۴) بود که تفاوت معنی‌داری با سایر پوشش‌ها طی روزهای نگهداری داشت. در مقابل، در تمام روزهای نگهداری، پوشش نانوکیتوزان یک درصد حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت ۴۰ میلی‌گرم کم‌ترین آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز را نشان داد. و در روز ۲۱ و ۲۸ نگهداری نسبت به سایر روزها به‌میزان کم‌تر (۰/۰۱۶۴) مشاهده شد. که با کم‌ترین تیمار سایر روزهای نگهداری تفاوت معنی‌داری را نشان داد که تأثیر قابل توجه تیمار ترکیبی نانوکیتوزان با غلظت یک درصد و نانوهیدروکسی آپاتیت را برجسته می‌کند.

قارچ‌های شاهد افزایش قابل توجه فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز را در طول زمان نشان دادند. بااین‌وجود، فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز در همه قارچ‌های پوشش داده‌شده مهار شد. آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز یکی از آنزیم‌های کلیدی در قهوه‌ای شدن آنزیمی قارچ است. این امر می‌تواند اکسیداسیون مونو و دی فنل‌ها را به o-quinones کاتالیز کند و این کینون‌ها سپس پلیمریزه می‌شوند تا رنگدانه‌های قهوه‌ای تولید کنند (Han et al., 2015). فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز قارچ‌های شاهد به‌سرعت افزایش یافت و به‌طور قابل توجهی بیش‌تر از نمونه‌های پوشش داده‌شده بود. بنابراین، می‌توان اشاره کرد که مهار فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز در قارچ‌های پوشش داده‌شده می‌تواند به یک اثر هم‌افزایی ناشی از عوامل متعددی مانند کاهش دسترسی به O_2 تولیدشده توسط پوشش نانوکیتوزان در ترکیب با نانوهیدروکسی آپاتیت و مواد ضدمیکروبی مرتبط باشد (Louis et al., 2021). مهار فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز با پوشش میوه‌ها و سبزیجات توسط محققان متعددی گزارش شده است.

در مطالعه‌ای که روی کارآیی پوشش صمغ کتیرا (*Astragalus gummifer*) غنی‌شده با دو اسانس مختلف در کاهش قهوه‌ای شدن آنزیمی و پیری قارچ دکمه‌ای توسط نصیری و همکاران Nasiri et al., 2019) صورت گرفت، نشان داده شد که فعالیت آنزیم پلی‌فنل-اکسیداز در طول دوره نگهداری افزایش یافت. فعالیت آنزیم پلی‌فنل-اکسیداز قارچ‌های شاهد به‌سرعت بدون پیک افزایش یافت و به‌طور قابل توجهی بیش‌تر از نمونه‌های پوشش داده‌شده با صمغ کتیرا حاوی اسانس‌های مرزه خوزستانی (*Satureja khuzestanica*) و آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) بود. فعالیت بالای آنزیم پلی‌فنل-اکسیداز منجر به ظاهر تیره و ناخوشایند قارچ‌ها می‌شود. در مطالعه‌ای روی عمر پس از برداشت قارچ دکمه‌ای تحت تیمار با ارگوتیونئین، فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز قارچ به‌تدریج در روز ۱۳ به حداکثر مقدار افزایش یافت و سپس در روزهای باقی‌مانده شروع به کاهش کرد. تیمار ارگوتیونئین منجر به فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز کمتر در مقایسه با شاهد شد و فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز در نمونه‌های تیمارشده با ارگوتیونئین ۰/۲۲ درصد کم‌تر از گروه شاهد در روز ۱۷ بود. کاهش قابل توجه فعالیت پراکسیداز در هر دو گروه مشاهده شد، ارگوتیونئین سرعت کاهش فعالیت پراکسیداز را در طول دوره نگهداری به‌جز روز ۱۷ تسریع کرد (Qian et al., 2021). براساس پژوهش لیو و همکاران (Liu et al., 2019) روی تأثیر بسته‌بندی فیلم کیتوزان پیوندی با اسید گالیک بر کیفیت پس از برداشت قارچ دکمه‌ای سفید نشان دادند که قارچ‌های بسته‌بندی‌شده با فیلم کیتوزان پیوندی با اسید گالیک کم‌ترین فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز را در بین تمام گروه‌های تیمار نشان دادند. این نتیجه نشان می‌دهد که بسته‌بندی فیلم کیتوزان پیوندی با اسید گالیک برای سرکوب فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز و در نتیجه کاهش قهوه‌ای شدن آنزیمی قارچ‌ها مؤثر است.

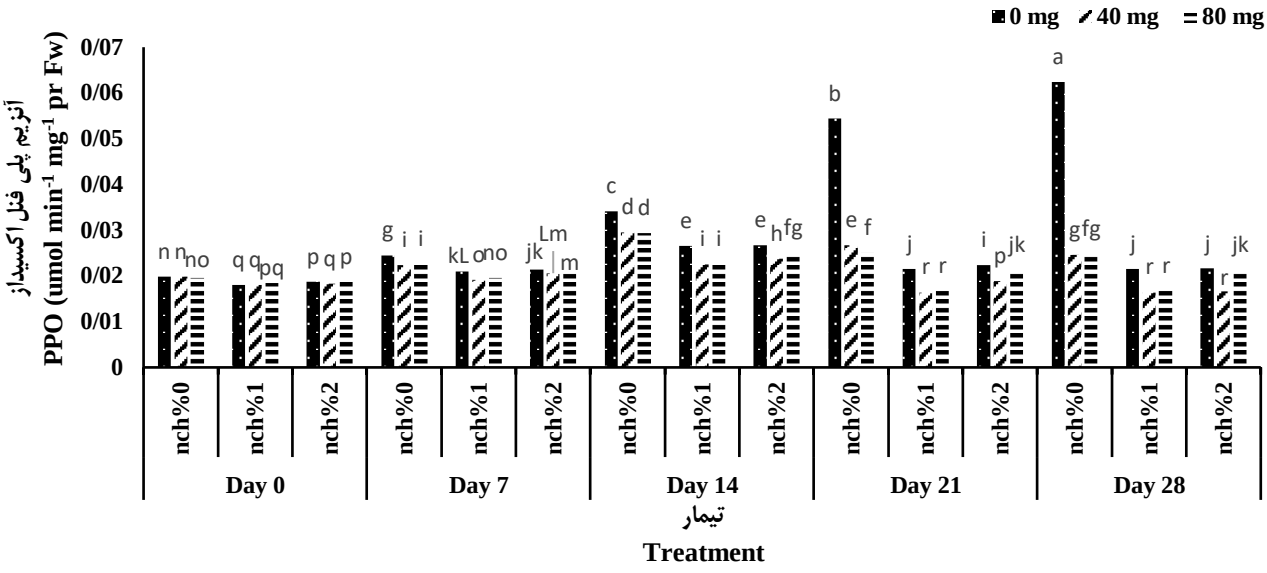
مالون‌دی‌آلدئید (MDA)

مطابق با نمودار شکل ۶ نشان داده شده است که افزایش تدریجی مالون‌دی‌آلدئید در قارچ‌های بدون پوشش و پوشش داده‌شده در طول نگهداری مشاهده شد. بااین‌وجود، استفاده از پوشش‌های نانوهیدروکسی آپاتیت به‌تنهایی یا همراه با نانوکیتوزان منجر به کاهش مالون‌دی‌آلدئید در مقایسه با گروه شاهد (بدون پوشش) شد. بیش‌ترین میزان مالون‌دی‌آلدئید مربوطه به تیمار گروه شاهد بدون پوشش روز ۲۸ نگهداری (به‌میزان ۰/۰۲۰۵) بود که تفاوت معنی‌داری با تمام تیمارها در طی روزهای نگهداری داشت. به‌طور خاص، در تمام روزهای نگهداری به‌جز روز صفر، پوشش ترکیبی نانوکیتوزان یک درصد حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت ۴۰ میلی‌گرم کم‌ترین مالون‌دی‌آلدئید را نشان داد که تا روز هفتم نگهداری روند ثابت و از روز ۱۴ تا ۲۸ نگهداری روند افزایشی را داشت. در مقابل، نمونه شاهد بیش‌ترین مالون‌دی‌آلدئید را در طی دوره نگهداری نشان داد که تأثیر قابل توجه تیمار ترکیبی نانوکیتوزان با غلظت یک درصد و نانوهیدروکسی آپاتیت را برجسته می‌کند.

پراکسیداسیون لیپیدی یک تغییر اکسیداتیو اسیدهای چرب چند غیراشباع در غشای‌سلولی است که تعدادی از محصولات تخریب را تولید می‌کند. مالون‌دی‌آلدئید یکی از محصولات پراکسیداسیون لیپیدی است که به‌طور گسترده‌ای به‌عنوان نشانگر زیستی پراکسیداسیون لیپیدی پذیرفته شده است (Hu et al., 2015).

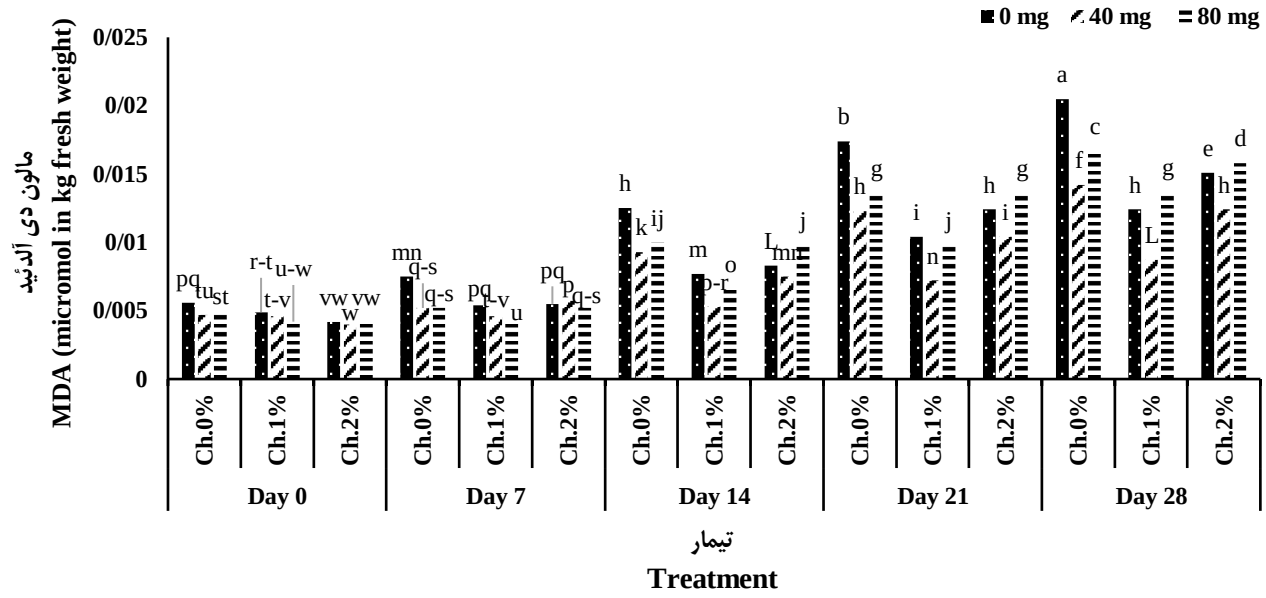
طی مطالعه‌ای روی افزایش ماندگاری قارچ دکمه‌ای با تیمار ارگوتیونئین نشان داده شد که تیمار قارچ دکمه‌ای با ارگوتیونئین افزایش محتوای مالون‌دی‌آلدئید را به تأخیر انداخت. در پایان نگهداری ، قارچ‌های تیمارشده با ارگوتیونئین ۹/۱۰ درصد کم‌تر از گروه شاهد، محتوای مالون‌دی‌آلدئید را نشان دادند (Qian et al., 2021).

با توجه به نتایج پژوهش حاضر، یک روند افزایشی کلی محتوای مالون‌دی‌آلدئید مشاهده شد که با نتایج مطالعات دیگر که در آن‌ها محتوای مالون‌دی‌آلدئید یک روند افزایشی کلی را نشان داد (Huang et al., 2019; Qian et al., 2021)، منطبق است.



شکل ۵- اثر سه‌گانه پوشش نانوکیتوزان × نانوهیدروکسی آپاتیت × زمان پس از برداشت بر فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز نمونه‌های قارچ دکمه‌ای

Figure 5- Triple effect of chitosan nanoparticle coating (ch) × hydroxyapatite nanoparticle × postharvest time on PPO activity of button mushroom samples (DMRT, $p \leq 0.05$)



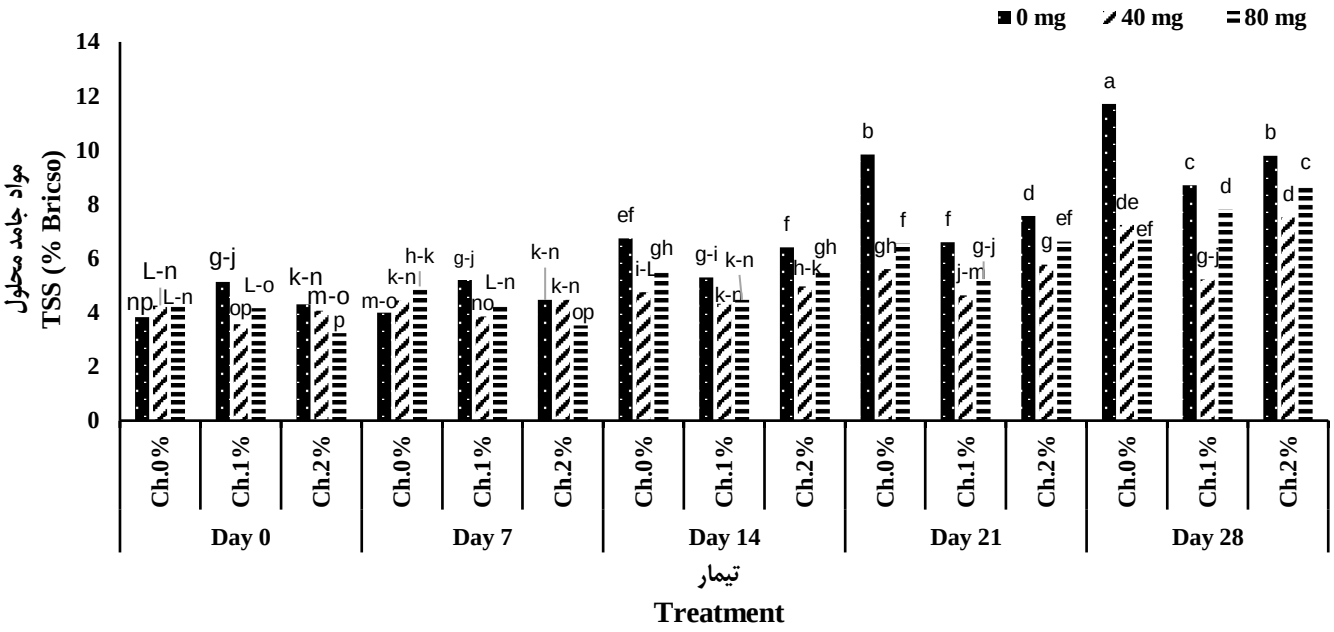
شکل ۶- اثر سه‌گانه پوشش نانوکیتوزان × نانوهیدروکسی آپاتیت × زمان پس از برداشتبر محتوای مالون دی الدئید نمونه‌های قارچ دکمه‌ای

Figure 6- Triple effect of chitosan nanoparticle coating (ch) × hydroxyapatite nanoparticle × postharvest time on MDA content of button mushroom samples (DMRT, $p \leq 0.05$)

مواد جامد محلول (TSS)

طبق نمودار شکل ۷ نشان داده شده است که افزایش تدریجی میزان مواد جامد محلول در قارچ‌های بدون پوشش و پوشش داده‌شده در طول نگهداری مشاهده شد. بااین‌وجود، استفاده از پوشش‌های نانوهیدروکسی آپاتیت به‌تنهایی یا همراه با نانوکیتوزان در روز صفر و هفتم نگهداری به‌جز پوشش نانوکیتوزان یک درصد تفاوت معنی‌داری در مقایسه با گروه شاهد (بدون پوشش) نداشت، امّا از روز ۱۴ تا روز ۲۸ نگهداری منجر به کاهش سطوح مواد جامد محلول در مقایسه با گروه شاهد (بدون پوشش) شد. بیش‌ترین میزان مواد جامد محلول مربوط به گروه شاهد روز ۲۸ نگهداری (به‌میزان ۱۱/۷۰) بود که تفاوت معنی‌داری با سایر پوشش‌ها در طی دوره نگهداری داشت. به‌طور خاص، پوشش نانوکیتوزان یک درصد حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت ۴۰ میلی‌گرم کم‌ترین مواد جامد محلول را نشان داد. و در روز صفر نگهداری به‌میزان کم‌تر (۳/۵۶) مشاهده شد. که با کم‌ترین تیمار سایر روزها به‌جز روز هفتم نگهداری تفاوت معنی‌داری را نشان داد. در مقابل، نمونه شاهد از روز ۱۴ تا پایان دوره نگهداری بیش‌ترین مواد جامد محلول را نشان داد که تأثیر قابل توجه تیمار ترکیبی نانوکیتوزان با غلظت یک درصد و نانوهیدروکسی آپاتیت را برجسته می‌کند.

افزایش مواد جامد محلول در محصولات پس از برداشت، عموماً به‌دلیل سرعت تنفس بالا و پیشرفت روند پیری است. یکی دیگر از عوامل مؤثر در افزایش مواد جامد محلول در قارچ مسن ممکن است پلی‌ساکاریدهای دیواره‌سلولی و حل شدن همی‌سلولز باشد. این پوشش‌ها یک فیلم نیمه‌تراوای امیدوارکننده را روی سطح میوه ایجاد می‌کنند که با کاهش O_2 و یا افزایش CO_2 و سرکوب تولید اتیلن، جو داخلی را تنظیم می‌کنند. سنتز و استفاده از متابولیت‌ها به‌دلیل هیدرولیز آهسته‌تر کربوهیدرات‌ها به قند، پیامدهای مواد جامد محلول را کاهش می‌دهد که با کاهش نرخ تنفس کاهش می‌یابد (Nasiri et al., 2019). مواد جامد محلول به‌علت شکسته شدن کربوهیدرات پلی‌مری به ملکول‌های کوچک‌تر محلول در آب، در هنگام رسیدن افزایش می‌یابد و در نتیجه این مقدار مواد جامد محلول در میزان آب کم‌تری قرار می‌گیرند که منجر به افزایش بریکس می‌شود. به عبارت دیگر، هرچه میوه آب کم‌تری از دست بدهد، بریکس میوه به‌میزان کم‌تری افزایش می‌یابد (Shamlou et al., 2019). دلیل افزایش تدریجی مواد جامد محلول، وجود آب در نمونه‌های قارچ است (Hosseini & Moradinezhad, 2018). طی پژوهشی که روی کارآیی پوشش صمغ کتیرا غنی‌شده با دو اسانس (آویشن شیرازی و مرزه خوزستانی) مختلف در کاهش پیری قارچ دکمه‌ای انجام شد، نشان داده شد که افزایش محتوای جامدات محلول در طول زمان نگهداری تدریجی بود. نمونه‌های شاهد و متا بی سولفیت سدیم (M) و اسانس S (MS) بالاترین مواد جامد محلول را نشان دادند.



شکل ۷- اثر سه‌گانه پوشش نانوکیتوزان × نانوهیدروکسی آپاتیت × زمان پس از برداشت بر میزان مواد جامد محلول نمونه‌های قارچ دکمه‌ای

Figure 7- Triple effect of chitosan nanoparticle coating (ch) × hydroxyapatite nanoparticle × postharvest time on the soluble solids content of button mushroom samples (DMRT, $p \leq 0.05$)

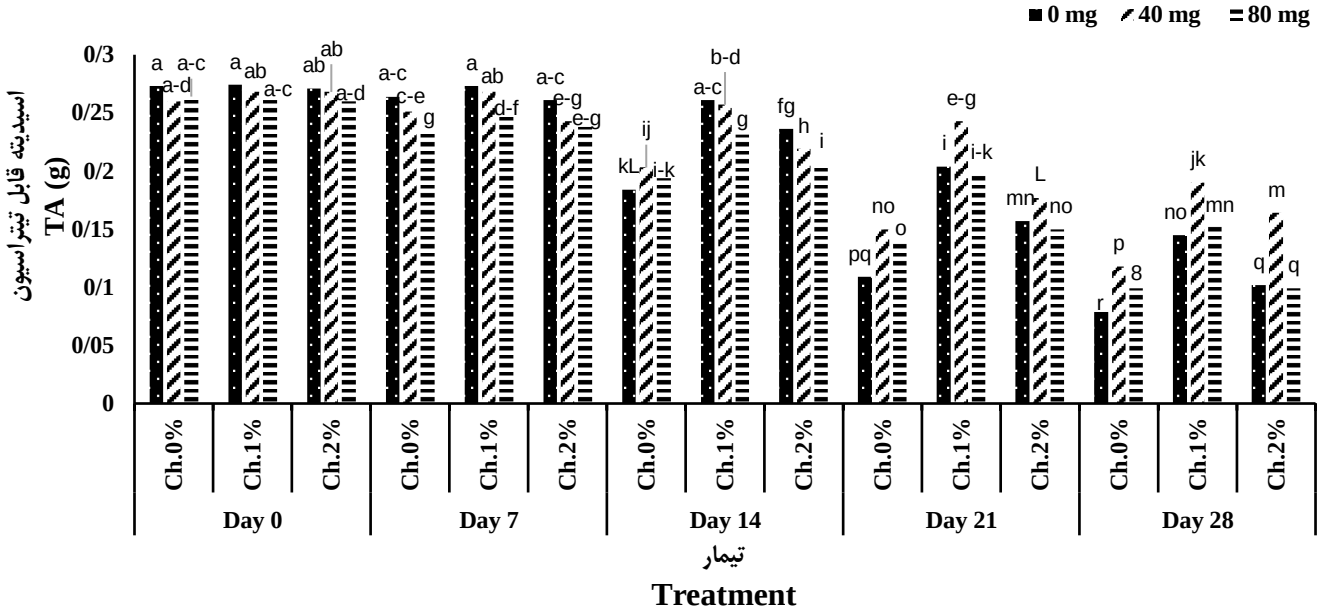
افزایش مواد جامد محلول نمونه‌های ترکیب صمغ کتیرا و اویشن شیرازی و ترکیب صمغ کتیرا و مرزه خوزستانی کندتر و تدریجی‌تر از نمونه‌های دیگر بود (Nasiri et al., 2019). این نتایج با یافته‌های کالیک و همکاران (Khaliq et al., 2015) مطابقت داشت که افزایش آهسته مواد جامد محلول را در مورد انبه پوشیده‌شده با صمغ عربی ارائه کردند.

اسیدیته قابل تیتراسیون (TA)

همان‌طور که در نمودار شکل ۸ نشان داده شده است، کاهش تدریجی اسیدیته قابل تیتراسیون در قارچ‌های بدون پوشش و پوشش داده‌شده در طول نگهداری مشاهده شد. بااین‌وجود، استفاده از پوشش‌های نانوهیدروکسی آپاتیت به‌تنهایی یا همراه با نانوکیتوزان از روز ۱۴ تا ۲۸ منجر به افزایش اسیدیته قابل تیتراسیون در مقایسه با گروه شاهد (بدون پوشش) شد. بیش‌ترین میزان اسیدیته قابل تیتراسیون مربوطه به تیمار نانوکیتوزان یک درصد روز صفر و هفتم نگهداری (به‌ترتیب به‌میزان ۰/۲۷۴ و ۰/۲۷۳) بود و در سایر روزها بیش‌ترین میزان در پوشش نانوکیتوزان یک درصد حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت ۴۰ میلی‌گرم به دست آمد. به‌طور خاص، کم‌ترین اسیدیته قابل تیتراسیون در گروه شاهد (بدون پوشش) روز ۲۸ نگهداری (به‌میزان ۰/۰۷۹) مشاهده شد که با کم‌ترین تیمار سایر روزها تفاوت معنی‌داری داشت و این تأثیر قابل توجه تیمار ترکیبی نانوکیتوزان با غلظت یک درصد و نانوهیدروکسی آپاتیت را برجسته می‌کند.

در مطالعه‌ای، دان و همکاران (Duan et al. 2011)بیان کردند که کاهش در میزان اسیدیته میوه بیانگر رسیدن و زوال آن است. پوشش‌ها، تغییرات اسیدیته را کند کرده و به‌طور مؤثری رسیدن و زوال آن‌ها را به تعویق می‌اندازند. با توجه به بیان پژوهشگران، حفظ اسیدیته قابل تیتر محصول قارچ نشانه ماندگاری مناسب آن است. همان‌طور که قارچ‌های پوشش‌دهی‌شده توانستند اسیدیته قابل تیتر خوبی را حفظ کنند، تیمارهای پوشش‌دار حفظ اسیدیته خوبی را نسبت به شاهد داشتند (Hamzeh-Kalkenari et al., 2020).

در مطالعه‌ای روی ماندگاری قارچ دکمه‌ای با پوشش کیتوزان و انواع فیلم‌های بسته‌بندی، نتایج نشان داد که میزان اسیدیته قابل تیتراسیون با گذشت زمان در تمام تیمارهای پوشش‌دار به‌تدریج کاهش یافت، و این کاهش پس از ۲۰ روز نگهداری در انبار سرد معنی‌دار نبود (Aminzade et al., 2015). در آزمایشی نشان داده شد که کیتوزان اثر معنی‌داری بر میزان اسیدیته قابل تیتر داشت. کم‌ترین میزان آن در قارچ‌های بدون پوشش و بیش‌ترین مقدار آن در قارچ‌های تیمارشده با کیتوزان دو درصد مشاهده شد (Aminzade et al., 2015).



شکل ۸- اثر سه‌گانه پوشش نانوکیتوزان × نانوهیدروکسی آپاتیت × زمان پس از برداشتبر میزان اسیدیته قابل تیتراسیون نمونه‌های قارچ دکمه‌ای

Figure 8- Triple effect of chitosan nanoparticle coating (ch) × hydroxyapatite nanoparticle × postharvest time on TA content of button mushroom samples (DMRT, $p \leq 0.05$)

در پژوهش حاضر، نتایج یک روند کاهشی کلی محتوای اسیدیته قابل تیتراسیون را نشان داد که استفاده از پوشش‌دهی منجر به افزایش اسیدیته قابل تیتراسیون در مقایسه با شاهد شد. این نتایج با نتایج برخی مطالعات دیگر روی محتوای اسیدیته قابل تیتراسیون (Aminzade et al., 2015; Hamzeh-Kalkenari et al., 2020) مطابقت داشت.

نتیجه‌گیری

با توجه به فسادپذیری بالای قارچ دکمه‌ای، استفاده از پوشش‌های طبیعی برای افزایش ماندگاری آن اهمیت ویژه‌ای دارد. این پژوهش به‌منظور ارزیابی تأثیر پوشش نانوکامپوزیتی مبتنی بر نانوکیتوزان و نانوهیدروکسی آپاتیت بر ویژگی‌های کیفی و بیوشیمیایی قارچ دکمه‌ای انجام شد. نتایج به‌طورکلی نشان داد که پوشش ترکیبی نانوکیتوزان یک درصد حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت ۴۰ میلی‌گرم، مؤثرترین تیمار بود. این پوشش توانست با کاهش شاخص‌های زوال مانند مالون‌دی‌آلدئید، فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز و مواد جامد محلول، و همچنین با حفظ سطح بالاتر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز) و اسیدیته قابل تیتراسیون، کیفیت قارچ را به‌طور مؤثری حفظ کند. این تیمار ماندگاری پس از برداشت قارچ را تا ۲۸ روز افزایش داد و قابلیت بازارپسندی آن را تا ۱۴ روز حفظ نمود. بنابراین، استفاده از این پوشش نانوکامپوزیتی به‌عنوان یک روش ایمن و کارآمد برای افزایش عمر انبارمانی قارچ دکمه‌ای توصیه می‌شود.

سپاسگزاری

اجرای پژوهش حاضر به شماره ۳۷۱۸۲۳۴۹ و تاریخ ۱۴۰۲/۱۲/۲۵، در سامانه گلستان سایت دانشگاه لرستان ثبت شد و با کمک مالی از طرف دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران انجام شد. بدین‌وسیله از حمایت‌های آن‌ها سپاسگزاری می‌شود.

References

1. Asada, K. (1992). Ascorbate peroxidase hydrogen peroxide scavenging enzyme in plants. *Physiologica Plantarum, 85*(2), 235–241. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1992.tb04728.x
2. Aminzadeh, R., Ramin, A., & Amini, F. (2015). The effect of different types of packaging films and coating with chitosan on the storage life of button mushroom. MSc. Thesis, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran. p. 62. (In Persian).
3. Ding,Y., Zhu, Z., Zhao, J., Nie,Y., Zhang,Y., Sheng, J., Meng, D., Mao, H., & Tang, X. (2016). Effects of postharvest brassinolide treatment on the metabolism of white button mushroom (*Agaricus bisporus*) in relation to development of browning during storage. *Food and Bioprocess Technology*, *9*(8), 1327–1334. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1992.tb04728.x
4. Dokhanieh, A. Y., & Aghdam, M. S. (2016). Postharvest browning alleviation of *Agaricus bisporus* using salicylic acid treatment. *Scientia Horticulturae*, *207*(5), 146–151. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.05.025
5. Duan, J., Wu, R., Strik, B. C., & Zhao, Y. (2011). Effect of edible coatings on the quality of fresh blueberries (Duke and Elliott) under commercial storage conditions. *Postharvest Biology and Technology*, *59*(1), 71-79. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2010.08.006
6. Elsabee, M. Z., & Abdou, E. S. (2013). Chitosan based edible films andcoatings: A review. *Materials Science and Engineering C*, *33*(4), 1819–1841. https://doi.org/10.1016/j.msec.2013.01.010
7. Gallego, S. M., Benavides, M. P., Tomaro, M. L. (1996). Effect of heavy metal ion excess on sunflower leaves: Evidence for involvement of oxidative stress. *Plant Science*, *121*(2), 151-159. https://doi.org/10.1016/S0168-9452(96)04528-1
8. Ganjeh, M., Gharejelo, A., & Ghaderi, S. (2020). Evaluation of extending the shelf life of button mushroom (*Agaricus Bisporous*) using chitosan and *Ferulago angulate* essential oil. *Food Science*, *21*(154), 1-88. http://fsct.modares.ac.ir/article-7-73195-en.html
9. Han, L., Qin, Y., Liu, D., Chen, H., Li, H., & Yuan, M. (2015). Evaluation of biodegradable film packaging to improve the shelf-life of *Boletus edulis* wild edible mushrooms. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *29*, 288–294. https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.04.008
10. Huang, S. .J., Lin, S. Y., Wang, T. T., & Hsu, F. C. (2019). Combining acetic acid and ethanol as an anti-browning treatment for lettuce butt discoloration through repression of the activity and expression of phenylalanine ammonia lyase. *Postharvest Biology and Technology*, *164*, 111151. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2020.111151
11. Huang, T., Wang, L., Ma, L., Chen, M., & Qiao, X. (2021). Nano-chitosan coating enhances postharvest quality and antioxidant defense system of button mushroom (*Agaricus bisporus*). *Food Chemistry*, *339*, 128148.
12. Hamzeh-Kalkenari, S., Bodaghi, H., & Ghasimi Hagh, Z. (2020). Improving postharvest quality of button mushroom (*Agaricus bisporus*) using polyethylene-clay nanocomposite packing and *Echinophora cinerea* essential

oil coating. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, *17*(2), 315-328. https://doi.org/10.22067/ifstrj.v17i1.83935
13. Hu, Y. H., Chen, C. M., Xu, L., Cui, Y., Yu, X. Y., Gao, H. J., Wang, Q., Liu, K., Shi, Y., & Chen, Q. X. (2015). Postharvest application of 4-methoxy cinnamic acid for extending the shelf life of mushroom (*Agaricus bisporus*). *Postharvest Biology and Technology*, *104*(10), 33–41. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.03.007
14. Hosseini, A., & Moradinezhad, F. (2018). Effect of short-term high CO_2 treatment on quality and shelf life of button mushroom (*Agaricus bisporus*) at refrigerated storage. *Journal of Horticulture and Postharvest Research*, *1*(1), 37–48. https://doi.org/10.22077/jhpr.2018.1198.1006
15. Jiang, T., Feng, L., & Li, J. (2012). Changes in microbial and postharvest quality of shiitake mushroom (*Lentinus edodes*) treated with chitosan – glucose complex coating under cold storage. *Food Chemistry*, *131*(3), 780–786. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.08.087.
16. Karimirad, R., Behnamian, M., & Dezhsetan, S. (2019). Application of chitosan nanoparticle scontaining *Cuminum cyminum* oil asa deli very system for shelfl ifeextension of *Agaricus bisporus*. *LWT-Food Science and Technology*, *106*(4), 218-228. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.02.062
17. Karimirad, R., Behnamian, M., & Dezhsetan, S. (2020). Bitter orange oil incorporated into chitosan nanoparticles: Preparation, characterization and their potential application on antioxidant and antimicrobial characteristics of white button mushroom. *Food Hydrocolloids*, *100*(5), 105387. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105387
18. Kar, M., & Mishra, D. (1976). Catalase, peroxidase and plolyphenl oxidase activities during rice leaf senescence. *Plant Physiology*, *57*(2), 315-319. https://doi.org/10.1104/pp.57.2.315
19. Khazarai, M., Jihadi, M., Fazil, M., & Allameh, A. (2016). Investigating the effect of chitosan-lemon essence coating on button mushroom shelf life. *FoodTechnology and Nutrition*, *13*(1), 35-46.
20. Khaliq, G. H., Mohamed, M. T. M., Ali, A., Ding, P., & Ghazalic, H. M. (2015). Effect of gum Arabic coating combined with calcium chloride on physicochemical and qualitative properties of mango (*Mangiferaindica L.*) fruit during low temperature storage. *Scientia Horticulturae, 190*(6), 187–194. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.04.020
21. Landa, P., Müller, K., Přerostová, S., Petrová, S., Moťková, K., Vaněk, T., & Soudek, P. (2024). Effect of nano-hydroxyapatite and phosphate on thorium toxicity – *Arabidopsis* transcriptomic study. *Environmental and Experimental Botany*, *217*(1), 105573. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2023.105573
22. Louis, E., Villalobos-Carvajal, R., Reyes-Parra, J., Jara-Quijada, E., Ruiz, C., Andrades, P., Gacitúa, J., & Beldarraín-Iznaga, T. (2021). Preservation of mushrooms (*Agaricus bisporus*) by an alginate-based-coating containing a cinnamaldehyde essential oil nanoemulsion. *Food Packaging and Shelf Life*, *28*(1), 1-10. https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2021.100662
23. Liu, x., Sun, R., Zhou, Z., & Tang, Y. (2024). *In situ* growth of nano-hydroxyapatite on multilayered Ti C T MXene as a drug carrier with superior-performance. *Journal of Materials Science and Technology*, *180*(2), 91-101. https://doi.org/10.1016/j.jmst.2023.08.063
24. Liu, J., Liu, S., Zhang, X., Kan, J., & Jin, C. (2019). Effect of gallic acid grafted chitosan film packaging on the postharvest quality of white button mushroom (*Agaricus bisporus*). *Postharvest Biology and Technology*, *147*(1), 39-47. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.09.004
25. Meng, D. M., Zhang, Y. X., Yang, R., Wang, J., Zhang, X. H., Sheng, J. P., Wang, J. P., & Fan, Z. C. (2017). Arginase participates in the methyl jasmonate-regulated quality ma-intenance of postharvest *Agaricus bisporus* fruit bodies. *Postharvest Biology and Technology, 132*(1), 7–14. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.05.018
26. Moradian, S., Moini, S., & Almasi, H. (2017). Investigation of the properties of green tea extract loaded film and its effect on increasing shelf life of bottom mushroom. Iran's First Applied Chemistry Seminar, University of Tabriz, Tabriz, Iran. (In Persian).
27. Nasiri, M., Barzegar, M., Sahari, M. A., & Niakousari, M. (2019). Efficiency of Tragacanth gum coating enriched with two different essential oils for deceleration of enzymatic browning and senescence of button mushroom (*Agaricus bisporus*). *Original Research, Food Science and Nutrition, 7*(4), 1520–1528. https://doi.org/10.1002/fsn3.1000
28. Nakilcioğlu-taş, E., & Ötleş, S. (2020). Kinetics of colour and texture changes of button mushrooms (*Agaricus bisporus*) coated with chitosan during storage at low temperature. *Engineering Sciences*, *92*(2), 1678-2690. 10.1590/0001-3765202020181387
29. Plewa, M. J., Smith, S. R., & Wanger, E. D. (1991). Diethyldithiocarbamate suppresses the plant activation of *aromatic* amines into mutagens by inhibiting tobacco cell peroxidase. *Mutation Research*, *247*(1), 57-64. https://doi.org/10.1016/0027-5107(91)90033-K
30. Qian, X., Hou, Q., Liu, J., Huang, Q., Jin, Z., Zhou, Q., Jiang, T., & Zheng, X. (2021). Inhibition of browning and shelf life extension of button mushroom (*Agaricus bisporus*) by ergothioneine treatment. *Scientia Horticulturae*, *288*(2), 1-8. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110385

31. Ravindran, J., Jaiswal, A. K., & Jaiswal, S. (2020). Biopolymer-based nano-coatings modulate enzymatic and biochemical changes in mushrooms during storage. *Postharvest Biology and Technology, 168*, 111248.
32. Rezaei, P., Shahriari, Sh., & Direct, T. (2015). The role of polylactic acid packaging coating based on clay nanoparticles on the quality characteristics and shelf life of edible mushrooms. MSc. Thesis, Islamic Azad University, Quds Branch, Iran. p. 98. (In Persian).
33. Shao, P., Yu, J., Chen, H., & Gao, H. (2021). Development of microcapsule bioactive paper loaded with cinnamon essential oil to improve the quality of edible fungi. *Food Packaging and Shelf Life, 27*(2), 1-9. https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2020.100617
34. Sharifianjazi, F., Esmaeilkhanian, A., Moradi, M., Pakseresht, A., Shahedi Asl, M., Won Jang, H., & Varma, R. S. (2021). Biocompatibility and mechanical properties of pigeon bone waste extracted natural nano-hydroxyapatite for bone tissue engineering. *Materials Science and Engineering: B, 264*(1), 114950. https://doi.org/10.1016/j.mseb.2020.114950
35. Shamlou, S., Vaziri, A., Shekarabi, A., & Safekordi, A. A. (2019). Extending the shelf life of edible button mushroom (*Agaricus bisporus*) by edible coatings on the basis of natural polymers. *Food Science and Industry, 91*, 16.
36. Singh, S., Gaikwad, K. K., Lee, M., & Lee, Y. S. (2021). Thermally buffered corrugated packaging for preserving the postharvest freshness of mushrooms (*Agaricus bispours*). *Journal of Food Engineering*, *216*(1), 11–19. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.07.013
37. Stewart, R. C., & Bewley, J. D. (1980). Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes. *Plant Physiology*, *65*(2), 245-248. https://doi.org/10.1104/pp.65.2.245
38. Usman, M., Murtaza, G., & Ditta, A. (2021). Nutritional, medicinal, and cosmetic value of bioactive compounds in button mushroom (*Agaricus bisporus*): A review. *Applied Sciences, 11*(31), 1-16. https://doi.org/10.3390/app11135943
39. Valizadeh, M., Behnamian, M., Dezhsetan, S., & Karimirad, R. (2021). Controlled release of turmeric oil from chitosan nanoparticles extends shelf life of *Agaricus bisporus* and preserves its postharvest quality. *Food Bioscience*, *44*(1), 1-3. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101401
40. Victor Aberea, D., Sammy, A., Ojob Oyatogunc, G. M., Belen Paredes-Epinosaa, M., Carmalita Dharsika Niluxsshuna, M., & Hakamid, A. (2022). Mechanical and morphological characterization of nano-hydroxyapatite (nHA) for bone regeneration: A mini review. *Biomedical Engineering Advances, 4*(1), 100056. https://doi.org/10.1016/j.bea.2022.100056
41. Wang, T., Yun, J., Zhang, Y., Bi, Y., Zhao, F., & Niu, Y. (2021). Effects of ozone fumigation combined with nano-film packaging on the postharvest storage quality and antioxidant capacity of button mushrooms (*Agaricus bisporus*). *Postharvest Biology and Technology*, *176*(1), 1-11. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2021.111501

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

Research Article
Vol. 40, No. 3, Fall 2026, p. 501-521

Effect of Thidiazuron on the Morphophysiological and Biochemical Characteristics of *Catharanthus roseus* L. under Water Deficit Stress

M. Ghasemi Kamalvand[1], A. Rezaei Nejad[1*], F. Beiranvand[1], N. Zomorrodi[1]

1- Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Lorestan, Iran
(*- Corresponding author's Email: rezaeinejad.h@lu.ac.ir)

Received: 07 September 2025
Revised: 29 October 2025
Accepted: 18 November 2025
Available Online: 18 November 2025

How to cite this article:
Ghasemi Kamalvand, M., Rezaei Nejad, A., Beiranvand, F., & Zomorrodi, N. (2026). Effect of Thidiazuron on the morphophysiological and biochemical characteristics of *Catharanthus roseus* L. under water deficit stress. *Journal of Horticultural Science*, *40*(3), 501-521. (In Persian). https://doi.org/10.22067/jhs.2025.95290.1456

Introduction

The growth and development of plants in arid and semi-arid regions are restricted primarily due to limited water availability. Under these conditions, the physiological and biochemical characteristics of plants undergo significant changes. In these conditions, due to the imbalance of hormones, plant growth decreases. Therefore, the use of plant growth regulators can be an effective factor in improving tolerance to abiotic stresses. Thidiazuron is known to activate stress-responsive genes and promote the accumulation of stress-related signaling molecules, including abscisic acid and proline. *Catharanthus roseus* is an evergreen ornamental-medicinal plant that is very popular for planting in pots and green spaces.

Materials and Methods

The experiment was conducted as a factorial experiment in a completely randomized design with two factors and four replications in the research greenhouses of Lorestan Agricultural College during the spring and summer of 2022. The first factor was water deficit stress at three levels of 80 (control), 50, and 20% available water content in soil, and the second factor was foliar application of thidiazuron at three levels of 0 (control), 2.5, and 5 $mg.L^{-1}$. Water deficit stress was imposed and maintained using a pressure plate device and the gravimetric method. Thidiazuron was applied as a foliar spray. Three months after the application of water deficit stress, growth traits (Such as plant height, stem diameter, leaf number and area, flower diameter, root diameter and volume, fresh and dry weight of shoots and roots), gas exchange parameters (photosynthesis rate, transpiration rate, stomatal conductance, mesophyll conductance, and intracellular CO_2 concentration) and biochemical characteristics (relative leaf water content, electrolyte leakage, photosynthetic pigments, malondialdehyde and peroxidase and ascorbate peroxidase enzyme activities) were measured.

Results and Discussion

The results indicated that higher levels of water deficit stress significantly reduced plant growth, gas exchange rates, photosynthetic pigment content, and relative water content, while significantly increasing root length, photosynthetic water use efficiency, electrolyte leakage, malondialdehyde content, and antioxidant enzyme activity in *Catharanthus*. Foliar application of thidiazuron alleviated the negative impacts of water deficit stress by enhancing antioxidant enzyme activity, improving gas exchange, and maintaining better plant water balance. These results indicate that water deficit stress has detrimental effects on both vegetative and reproductive growth in *Catharanthus roseus*. However, thidiazuron application reduced these effects and improved plant tolerance to stress by promoting root growth and increasing antioxidant enzyme activity. Water

Authors retain the copyright. This is an open access article distributed under Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0).
https://doi.org/10.22067/jhs.2025.95290.1456

deficit limits plant growth by reducing shoot and root development, which decreases plant dry weight. This reduction is likely due to decreased photosynthesis, reduced cell expansion, and inhibited cell division. Thidiazuron may counteract these effects by promoting cell division, enhancing chlorophyll accumulation, stimulating the biosynthesis of photosynthetic pigments, and delaying leaf senescence through cytokinin stimulation. Drought stress also limits membrane integrity, pigment content, lipid biosynthesis, and hormonal balance by reducing gas exchange and carbon dioxide concentration, thereby reducing plant growth. On the other hand, thidiazuron, known as a cytokinin, has dual auxin and cytokinin effects and may facilitate the accumulation or synthesis of endogenous plant growth hormones, in fact, thidiazuron acts through adenine-type cytokinin activity either by stimulating endogenous cytokinin or by binding to cytokinin receptors. It also enhances plant growth by activating enzymatic and non-enzymatic antioxidant defense systems.

Conclusion

The results of the present experiment showed that thidiazuron enhances plant resistance to water deficit stress by stimulating root growth, enhancing gas exchange, and boosting enzymatic antioxidant activity. However, further research is needed to optimize its application for managing water deficit stress in *Catharanthus roseus*.

Acknowledgement

This article is based on a master's thesis proposal. The authors would like to thank Lorestan University and the Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, for their support.

Keywords: Drought, Hormone, Mesophyll conductance, Ornamental plants, Photosynthesis

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

مقاله پژوهشی

جلد ۴۰، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۵، ص. ۵۲۱-۵۰۱

تأثیر تیدیازورون بر ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه پروانش (*Catharanthus roseus* L.) تحت تنش کم‌آبیاری

مینا قاسمی کمالوند[۱]- عبدالحسین رضایی نژاد[۱*]- فرهاد بیرانوند[۱]- ناهید زمردی[۱]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۶/۱۶

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۸/۲۷

چکیده

هدف از این مطالعه، بررسی تأثیر محلول‌پاشی تیدیازورون بر مؤلفه‌های رشدی و ویژگی‌های فیزیوبیوشیمیایی گل پروانش (*Catharanthus roseus* L.) تحت شرایط تنش کم‌آبیاری بود. این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. عامل اول شامل تنش کم‌آبیاری در سه سطح ۸۰ (شاهد)، ۵۰ و ۲۰ درصد آب قابل دسترس و عامل دوم شامل محلول‌پاشی تیدیازورون در سه سطح صفر (شاهد)، ۲/۵ و ۵ میلی‌گرم در لیتر بود. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که افزایش سطح تنش کم‌آبیاری باعث کاهش معنی‌دار مؤلفه‌های رشدی گیاه (مانند ارتفاع بوته، قطر ساقه، تعداد و سطح برگ، قطر گل، قطر و حجم ریشه و وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه)، سرعت تبادلات گازی (سرعت فتوسنتز و تعرق، هدایت روزنه‌ای و مزوفیلی و غلظت دی‌اکسید کربن درون سلولی)، محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی و محتوای نسبی آب برگ شد، از طرفی باعث افزایش قابل توجه طول ریشه، کارآیی مصرف آب فتوسنتزی، نشت الکترولیت، میزان مالون دی‌آلدئید و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز گردید. محلول‌پاشی تیدیازورون باعث افزایش شاخص‌های رشدی گیاه (اندام‌های هوایی و ریشه)، بهبود تبادلات گازی، محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی، شاخص ثبات کلروفیل، محتوای نسبی آب برگ و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شد و در مقابل نشت الکترولیت و محتوای مالون دی‌آلدئید را کاهش داد. به‌طورکلی، نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که تنش کم‌آبیاری دارای اثرات منفی بر رشد رویشی و زایشی در پروانش می‌باشد. بااین‌وجود، کاربرد تیدیازورون با بهبود رشد ریشه و افزایش فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی، اثرات تنش کم‌آبیاری را کاهش و مقاومت گیاه به تنش را افزایش داد.

واژه‌های کلیدی: خشکی، فتوسنتز، گیاهان زینتی، هدایت مزوفیلی، هورمون

مقدمه

تغییرات اقلیمی، مشکل خشکسالی را تشدید می‌کند و می‌تواند دامنه آن را در مناطق خشک و نیمه‌خشک گسترش دهد و رشد و نمو گیاهان را محدود کند (Chieb & Gachomo, 2023; Liu et al., 2022). بنابراین برای مدیریت بهتر منابع آبی (به‌خصوص در فضای سبز) باید به توسعه راهبردهای جایگزین پایدار و کم‌اثر بر محیط زیست جهت مقابله با اثرات تنش خشکی توجه بیشتری گردد (Chieb & Gachomo, 2023). دراین‌میان، تیمار گیاهان با تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی، روشی مؤثر برای بهبود مقاومت گیاه و کاهش آسیب ناشی از تنش است؛ زیرا فیتوهورمون‌ها می‌توانند فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاه را تعدیل کنند و نقش مهمی در بهبود سیستم‌های دفاعی گیاه در برابر شرایط نامطلوب محیطی داشته باشند (Sepehri et al., 2025). در گیاهان، هورمون‌های گیاهی، فعالیت‌های مختلف سلولی و پاسخ گیاهان به تنش‌های زیستی و غیرزیستی را تنظیم می‌کنند (Karnwal et al., 2023; Khan & Singh, 2021; Ali et al., 2018).

تیدیازورون (1-phenyl-3-(1,2,3-thiadiazol-5-yl) urea; TDZ)، یک تنظیم‌کننده رشد گیاهی با فعالیت شبه‌سایتوکینینی (فاقد حلقه پورین-مشتق اوره) است که بر فیزیولوژی گیاه مانند تغذیه سلولی تأثیر می‌گذارد و می‌تواند تعادل هورمون‌های درون‌زا و برون‌زا را حفظ کند (Arli et al., 2024). تیدیازورون به‌دلیل مقاومت به اکسیدازهای درونی سیتوکینین در داخل بافت گیاهان ماندگاری

۱- گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، لرستان، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: rezaeinejad.h@lu.ac.ir)
https://doi.org/10.22067/jhs.2025.95290.1456

بالایی دارد و همچنین فعالیت سیتوکینین اکسیداز/دهیدروژناز را مهار می‌کند که می‌تواند منجر به افزایش تجمع پورین سیتوکینین در بافت گیاهان شود (Dewir et al., 2018). از طرفی دیگر، تیدیازورون، ژن‌های مرتبط با تنش را فعال و تجمع مولکول‌های سیگنال‌دهی تنش از جمله اسید آبسیزیک و پرولین را افزایش می‌دهد (Dewir et al., 2018). تأثیر منفی تنش کم‌آبیاری بر رشد و نمو گیاهان زینتی از جمله شمعدانی معطر (*Pelargonium graveolens*) (Yasemi et al., 2024) و پروانش (*Catharanthus roseus* L.) (Zomorrodi et al., 2022) گزارش شده است. پژوهش‌های اخیر نشان می‌دهد که تیدیازورون علاوه‌بر تحریک رشد در شرایط معمول، در تعدیل پاسخ‌های گیاهان به تنش خشکی نیز مؤثر است. تیدیازورون از طریق تعدیل مسیرهای هورمونی (به‌ویژه سیتوکینین، اکسین، اتیلن و اسید آبسیزیک) (Wang et al., 2025; Li et al., 2022; Erland et al., 2020) می‌تواند اثرات تنش خشکی را بر گیاهان کاهش دهد. در شرایط کم‌آبی، اعمال تیدیازورون منجر به افزایش شاخص‌های رشد، حفظ محتوای نسبی آب برگ (Yasemi et al., 2024; Allahbakhsh et al., 2020)، بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (Erland et al., 2020; Yang et al., 2019)، ترکیبات فنلی (Allahbakhsh et al., 2020) و کاهش پراکسیداسیون غشاها می‌شود. مطالعات یاسمی و همکارن (Yasemi et al., 2024) نشان داد که محلول‌پاشی تیدیازورون در گیاهان شمعدانی معطر تحت شرایط تنش کم‌آبیاری باعث افزایش ارتفاع بوته، تعداد شاخه جانبی، تعداد برگ، رشد ریشه، غلظت رنگدانه‌های فتوسنتزی، محتوای نسبی آب برگ و عملکرد اسانس و کاهش میزان نشت الکترولیت و محتوای مالون دی‌آلدئید شد و در نتیجه مقاومت گیاهان به تنش کم‌آبیاری را افزایش داد. مطالعه لی و همکاران (Li et al., 2022) نشان داد که تیدیازورون با تعدیل مسیرهای هورمونی از جمله اتیلن، اکسین و آبسیزیک اسید که در پاسخ گیاه به تنش خشکی دخالت دارند، می‌تواند در مدیریت تعادل هورمونی گیاهان تحت کم‌آبی مؤثر باشد. بااین‌حال، پاسخ گیاه به تیدیازورون به غلظت، نوع گونه، شدت تنش و نحوه کاربرد آن بستگی دارد (Wang et al., 2025; Jiang et al., 2024). لذا هدف از این مطالعه، بررسی تأثیر محلول‌پاشی تیدیازورون بر شاخص‌های گل‌دهی و مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گل پروانش تحت شرایط تنش کم‌آبیاری است. پریوش (پروانش ماداگاسکاری) با نام علمی *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. متعلق به خانواده خرزهره (Apocynaceae)، گیاهی زینتی-دارویی همیشه سبز است که محبوبیت زیادی برای کاشت در گلدان و فضای سبز دارد (Zomorrodi et al., 2022).

مواد و روش‌ها

آزمایش حاضر به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه عامل و چهار تکرار در گلخانه‌های پژوهشی دانشکده کشاورزی لرستان (دمای روزانه ۲۸-۲۰ درجه سانتی‌گراد، دمای شبانه ۲۰-۱۵ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۷۰-۶۰ درصد و شدت نور ۵۰۰-۴۰۰ میکرومول بر مترمربع در ثانیه) در بهار و تابستان ۱۴۰۱ انجام شد. عامل اول شامل تنش کم‌آبیاری در سه سطح ۸۰ (شاهد)، ۵۰ و ۲۰ درصد آب قابل دسترس در خاک، و عامل دوم، محلول‌پاشی تیدیازورون در سه سطح صفر (شاهد)، ۲/۵ و ۵ میلی‌گرم در لیتر بود. بذرهای F_1 (شرکت پاکان بذر اصفهان) در گلدان‌هایی (۱/۵ کیلوگرمی، هر گلدان حاوی یک گیاه) شامل مخلوط ماسه، خاک زراعی و کود گوسفندی پوسیده گندزدایی‌شده به نسبت مساوی ۱:۱:۱ (با بافت خاک لومی رسی-شنی، ظرفیت زراعی ۲۳/۲۲ درصد، نقطه پژمردگی ۱۷/۶۶ درصد، حاوی ۰/۰۸۳ درصد نیتروژن، فسفر قابل جذب، پتاسیم، منیزیم و آهن نیز به‌ترتیب ۱/۸۶، ۰/۲۲، ۰/۴۵۲ و ۰/۰۰۲۲ میلی‌گرم در کیلوگرم) کشت شدند. تیمار کم‌آبیاری با کمک دستگاه صفحات فشاری و روش وزنی محاسبه و اعمال شد (Zomorrodi et al., 2022). همچنین اعمال تیمار تیدیازورون (با فرمول: $C_9H_8N_4OS$ و وزن مولکولی: ۲۲۰/۲۵ گرم بر مول) به‌صورت محلول‌پاشی در دو مرحله با فاصله زمانی در زمان چهار برگی گیاهان هم‌زمان با اعمال تنش کم‌آبیاری انجام شد. گلدان‌های شاهد نیز با آب مقطر محلول‌پاشی گردید (Yasemi et al., 2024). سه ماه بعد از اعمال تنش کم‌آبیاری ویژگی‌های زیر اندازه‌گیری شد (Zomorrodi et al., 2022).

شاخص‌های رشدی

ویژگی‌های ارتفاع گیاه، قطر ساقه، تعداد برگ، سطح برگ، وزن تر و خشک ساقه، برگ، گل و ریشه، طول (با استفاده از خط‌کش برحسب سانتی‌متر)، حجم (از طریق اختلاف حجم ایجادشده پس از قرار گرفتن ریشه در حجم مشخصی از آب برحسب سانتی‌مترمکعب) و قطر (با استفاده از دستگاه دیجیتالی کولیس برحسب میلی‌متر) ریشه و گل، و شاخص تحمل به تنش (وزن خشک کل به وزن خشک شاهد) (معادله ۱) (Fischer & Maurer, 1998) اندازه‌گیری شدند. زمان ظهور غنچه گل، مصادف با مشاهده اولیه غنچه گل از زمان کاشت بذر در نظر گرفته شد (Zomorrodi et al., 2022). طول عمر گل روی بوته (واحد برحسب روز)، فاصله زمانی بین باز شدن گل تا پژمردگی آن در نظر گرفته شد (Zomorrodi et al., 2022). برای تعیین وزن خشک اندام‌های گیاهی (ساقه، برگ،

گل گل و ریشه) نیز نمونه‌ها به آون با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت انتقال داده شدند.

$$\text{STI (Stress tolerance index)}(\%) = \frac{\text{Total dry weight (g)}}{\text{Control dry weight (g)}} \times 1 \quad (۱)$$

تبادلات گازی

تبادلات گازی شامل سرعت فتوسنتز، هدایت روزنه‌ای، سرعت تعرق و غلظت دی‌اکسید کربن درون سلولی توسط دستگاه سنجش فتوسنتز مدل LCA4 (ADC Bioscientific, Ltd., Hoddesdon, England) اندازه‌گیری شدند. کارآیی کربوکسیلاسیون (هدایت مزوفیلی) نیز از تقسیم میزان فتوسنتز به دی‌اکسید کربن درون سلولی (معادله ۲) به دست آمد (Tiwari et al., 1998). کارآیی مصرف آب درون سلولی (فتوسنتزی) از طریق تقسیم مقدار فتوسنتز خالص بر تعرق (معادله ۳) محاسبه شد (Ritchie et al., 1990).

$$\text{Mesophilic conductance}(mmol.m^{-2}s^{-1}) = \frac{P_n(\mu mol.m^{-2}s^{-1})}{CO_{2i}\,(\mu mol.mol^{-1})} \quad (۲)$$

که در آن، Mesophilic conductance: هدایت مزوفیلی، Pn: سرعت فتوسنتز و CO_{2i}: دی‌اکسید کربن درون سلولی است.

$$\text{PWUE}\ (\mu molCO_2.mol^{-1}H_2O) = \frac{P_n(\mu mol.m^{-2}s^{-1})}{E\ (mmol.m^{-2}s^{-1})} \quad (۳)$$

که در آن، PWUE: کارآیی مصرف آب فتوسنتزی، Pn: سرعت فتوسنتز و E: سرعت تعرق است.

ویژگی‌های فیزیوبیوشیمیایی

محتوای نسبی آب برگ، نشت الکترولیت و محتوای مالون دی‌آلدئید

اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ گیاه به‌روش ریچی و همکاران (Ritchie et al., 1990) انجام شد. پس از اندازه‌گیری وزن تر، نمونه‌های برگ به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر غوطه‌ور گردید. پس از آن، وزن تورژسانس آن اندازه‌گیری شد. جهت اندازه‌گیری وزن خشک، نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در داخل آون و در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. در نهایت محتوای نسبی آب برگ برحسب درصد با استفاده از معادله ۴ محاسبه شد.

$$\text{RWC}\ (\%) = (\text{Fw- Dw/ Tw- Sw}) \quad (۴)$$

که در آن، RWC: محتوای نسبی آب برگ، Fw: وزن تازه برگ، Sw: وزن تورژسانس (اشباع) و Dw: وزن خشک برگ است.

برای تعیین نفوذپذیری غشاء سلولی طبق روش لوتس و همکاران (Lutts et al., 1996)، از برگ‌های جوان کاملاً توسعه‌یافته نمونه‌برداری گردید. نمونه‌های برگی در ابعاد یک سانتی‌متری بریده و سپس با آب مقطر شسته شد. پس از آن، به مدت دو ساعت در دمای اتاق و در داخل لوله‌های شیشه‌ای درب‌دار حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر قرار گرفت. هدایت الکتریکی اولیه به‌وسیله دستگاه EC متر قرائت شد. نمونه‌ها در اتوکلاو و در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه قرار گرفت و پس از سرد شدن نمونه‌ها، هدایت الکتریکی ثانویه قرائت گردید. در نهایت درصد نشت الکترونیک برگ با استفاده از معادله ۵ محاسبه شد.

$$\text{EL}\ (\%) = (E1/E2)\times 100 \quad (۵)$$

که در آن، EL: نشت الکترولیت، E1: هدایت الکتریکی اول و E2: هدایت الکتریکی دوم است.

میزان مالون دی‌آلدئید نیز براساس روش وانگ و همکاران (Wang et al., 2009) اندازه‌گیری شد. بدین منظور، یک دهم گرم از بافت تازه گیاه (برگ) با استفاده از نیتروژن مایع درون هاون چینی خرد شد، سپس پنج میلی‌لیتر از محلول نیم درصد اسید تیوباربیتوریک (حل‌شده در اسید تری‌کلرو استیک) به آن اضافه و در فالکون ریخته شد. به‌منظور انجام واکنش، فالکون‌ها به مدت ۱۵ دقیقه درون حمام آب گرم با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد 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 توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (SHIMADZU, model UV-1700, Japan)، قرائت شد و سپس میزان مالون دی آلدئید برحسب میکرومول بر گرم وزن تر (معادله ۶) محاسبه گردید.

$$\text{MDA} = 6.45(\text{OD532-OD600})- 0.56(\text{OD450}) \quad (۶)$$

که در آن، MDA: غلظت مالون دی‌آلدئید و OD: میزان جذب در طول موج مورد نظر است.

رنگیزه‌های فتوسنتزی و شاخص ثبات کلروفیل

برای سنجش میزان کلروفیل و کاروتنوئید از روش لیختن هالر (Lichtenthaler, 1987) استفاده شد. ابتدا ۰/۱ گرم برگ توزین گردید. برگ در هاون چینی با ازت مایع خرد و با ۱۰ میلی‌لیتر استون خالص مخلوط شد. عصاره به‌دست‌آمده در فالکون ۱۵ میلی‌لیتری ریخته و به مدت ۱۵ دقیقه در دور ۴۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. سپس با استفاده از اسپکتروفتومتر، جذب محلول در طول موج‌های ۶۴۵، ۶۶۲ و ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. استون به‌عنوان محلول شاهد برای تنظیم صفر جذب نوری اسپکتروفتومتر استفاده گردید. در نهایت، غلظت رنگیزه‌ها با استفاده از معادله‌های ۷، ۸، ۹ و ۱۰ محاسبه و براساس میلی‌گرم در گرم بیان گردید.

$$\text{Chla (mg/g)} = (11.24 \times A662) - (2.04 \times A645) \quad (۷)$$

$$\text{Chlb (mg/g)} = (20.13 \times A645) - (4.19 \times A662) \quad (۸)$$

$$\text{Total Chl (mg/g)} = 7.05 \times (A662) + 18.09 \times (A645) \quad (۹)$$

$$\text{Car} = \frac{1000 \times (A470 - 1.90\times \text{Chl a} - 63.14 \times \text{Chl b})}{214} \quad (۱۰)$$

که در آن، Chl a: غلظت کلروفیل a، Chl b: غلظت کلروفیل b، Total Chl: میزان کلروفیل کل و Car: غلظت کارتنوئید، A662: جذب در طول موج ۶۶۲ نانومتر، A645: جذب در طول موج ۶۴۵ نانومتر و A470: جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر است.

شاخص ثبات کلروفیل (CSI) نیز با استفاده از روش وینایا رای و پارتبان (Vinaya Rai & Parthiban, 1995) برحسب درصد اندازه‌گیری شد.

$$CSI(\%) = \frac{\text{Total chlorophyll contents (stressed)}}{\text{Total cholorophyll contents (control)}} \times 100 \quad (۱۱)$$

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

میزان فعالیت پراکسیداز براساس روش مک‌آدام و همکاران (MacAdam et al., 1992) اندازه‌گیری شد. بدین منظور، مقدار ۰/۳ گرم از نمونه را وزن کرده و سپس در هاون چینی بر روی یخ قرار گرفت و با ازت مایع خرد و کامل پودر شد. در ادامه، میزان ۱/۵ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات به آن اضافه و نمونه با آن کاملاً مخلوط شد. سوسپانسیون حاصل در میکروتیوپ‌های دو میلی‌لیتری ریخته و پس از آن در دستگاه سانتریفیوژ یخچال‌دار به مدت ۲۰ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد با دور ۱۴۰۰۰ در دقیقه قرار داده شد. میزان ۵۰ میکرولیتر از روشناور جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز در طول موج ۴۷۵ نانومتر با دستگاه اسپکتوفتومتر استفاده گردید. در نهایت، مقدار فعالیت آنزیم برحسب میزان آب اکسیژنه غیرفعال‌شده در یک دقیقه در هر گرم بافت تازه (معادله ۱۲) بیان شد.

$$\text{Activity (U/ml)} = (\Delta A475 \times l \times Vt \times df) / (\varepsilon \times l \times t \times Vs) \quad (۱۲)$$

که در آن، U: واحد آنزیمی، ΔA475: تفاوت میزان جذب مخلوط واکنش در زمان شروع و پایان واکنش، I: با توجه به ضریب در معادله تعیین می‌شود که معادل ۲ می‌باشد، Vt: حجم مخلوط واکنش، Df: فاکتور رقیق‌کننده، t: مدت زمان واکنش و Vs: حجم نمونه است.

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نیز براساس روش ناکانو و آسادا (Nakano & Asada, 1981) انجام شد. جهت استخراج این آنزیم، مقدار ۰/۱ گرم نمونه برگی در هاون چینی بر روی یخ قرار گرفت و با ازت مایع خرد و کامل پودر شد. یک میلی‌لیتر بافر استخراج آنزیم (بافر سدیم فسفات با غلظت ۵۰ میلی‌مولار و اسیدیته معادل ۷) به آن اضافه شد. برای تهیه بافر استخراج، ۲/۶۶ گرم NaH_2PO_4و ۳/۷۵ گرم Na_2HPO_4 در آب مقطر حل شد و سپس به آن EDTA با غلظت دو میلی‌مولار و PVP-40 یک درصد به حجم یک لیتر رسانده شد. پس از اضافه نمودن آسکوربات با غلظت یک میلی‌مولار، سوسپانسیون حاصل در میکروتیوپ‌های ۱/۵ میلی‌لیتری ریخته و در دستگاه سانتریفیوژ یخچال‌دار به مدت ۲۰ دقیقه و دمای چهار درجه سانتی‌گراد با دور ۱۴۰۰۰ در دقیقه قرار داده شد. میزان ۵۰ میکرولیتر از روشناور حاصل جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آسکوربات به کار گرفته شد. در نهایت، مقدار فعالیت آنزیم برحسب میزان آب‌اکسیژنه غیرفعال‌شده در یک دقیقه در هر گرم وزن تازه بافت (معادله ۱۳) بیان شد.

$$\text{Activity (U/ml)} = (\Delta A290 \times l \times Vt \times df) / (\varepsilon \times l \times t \times Vs) \quad (۱۳)$$

که در آن، U: واحد آنزیمی، Δ A240: تفاوت میزان جذب مخلوط واکنش در زمان شروع و پایان واکنش، I: با توجه به ضریب H_2O_2 در معادله تعیین می‌شود که معادل ۱ می‌باشد، Vt: حجم مخلوط واکنش، df: فاکتور رقیق‌کننده، t: مدت زمان واکنش و Vs: حجم نمونه است.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۴) و Minitab19 و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد محاسبه شد.

نتایج و بحث

شاخص‌های رشدی

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر ساده تنش کم‌آبیاری و تیدیازورون (به‌جز اثر تیدیازورون بر سطح برگ) بر تمام مؤلفه‌های رشدی مانند ارتفاع بوته، قطر ساقه و تعداد برگ معنی‌دار بود (جدول ۱). اثر متقابل تنش کم‌آبیاری و تیدیازورون بر شاخص‌های وزن تر و خشک ساقه، طول ساقه، تعداد و سطح برگ و وزن تر و خشک برگ معنی‌دار شد (جدول ۱). مقایسه میانگین اثر ساده تنش کم‌آبیاری نشان داد که ارتفاع بوته، قطر و طول ساقه تحت تأثیر تنش کم‌آبیاری کاهش پیدا کرد (جدول ۴). سطح تنش کم‌آبیاری ۲۰ درصد آب قابل دسترس، کمترین مقدار ارتفاع بوته، قطر و طول ساقه (به‌ترتیب ۳۱/۲۵، ۲۹/۴۱، ۳۲/۲۵ و ۳۰/۴۰ درصد کاهش) را در مقایسه با شاهد نشان داد. بررسی اثر ساده تیدیازورون بر شاخص‌های رشدی نشان داد که محلول‌پاشی تیدیازورون باعث افزایش ارتفاع بوته، قطر و طول ساقه شد و در غلظت پنج میلی‌گرم، بیشترین درصد افزایش طول ساقه (۱۵/۸۰ درصد افزایش) را نسبت به شاهد نشان داد (جدول ۴). بیشترین ارتفاع بوته و قطر ساقه نیز در غلظت ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر (به‌ترتیب ۱۴/۸۶ و ۶۱/۹۰ درصد افزایش) در مقایسه با شاهد به دست آمد. مقایسه میانگین اثر متقابل تنش کم‌آبیاری × تیدیازورون

نشان داد که تنش کم‌آبیاری باعث کاهش قابل توجه وزن تر و خشک ساقه، سطح برگ و وزن تر و خشک برگ شد (جدول ۵). تیمار ۲۰ درصد ظرفیت زراعی، کمترین مقادیر وزن تر و خشک ساقه، سطح برگ و وزن تر و خشک برگ (به‌ترتیب ۶۱/۸۲، ۶۰، ۴۴/۳۴، ۷۳/۶۴ و ۷۶/۷۱ درصد کاهش) را در مقایسه با شاهد نشان داد. محلول‌پاشی تیدیازورون بسته به سطح تنش کم‌آبیاری، تأثیرات متفاوتی به همراه داشت. بااین‌وجود، در سطوح تنش ۵۰ و ۲۰ درصد ظرفیت زراعی، کاربرد تیدیازورون باعث افزایش در شاخص‌های مذکور شد. به‌طوری که در سطح ۲۰ درصد آب قابل دسترس، غلظت ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر تیدیازورون، بهترین تأثیر را در افزایش وزن تر ساقه، خشک ساقه، وزن تر و خشک برگ (به‌ترتیب ۸۲/۸۳، ۱۰۴، ۸۹/۶۹ و ۸۲/۳۵ درصد افزایش) نسبت به شاهد نشان داد. در کل، غلظت ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر تیدیازورون در سطح ۸۰ درصد ظرفیت زراعی، بیشترین وزن تر و خشک ساقه و همچنین وزن خشک برگ (به‌ترتیب ۷۷/۷۷، ۱۱۶ و ۱۵ درصد افزایش) را نسبت به شاهد ثبت کرد. شاهد نیز بیشترین سطح برگ و وزن تر برگ را نشان داد. تحت شرایط تنش خشکی، کاهش آماس سلولی باعث کاهش تقسیم و طویل شدن سلول و متابولیت‌های ضروری مورد نیاز برای رشد و نمو گیاه می‌شود که در نتیجه، کاهش شاخص‌های رشد را به همراه خواهد داشت (Chieb & Gachomo, 2023). تحقیقات مختلف، تأثیر تیدیازورون روی گیاهان در کاهش (Celikel et al., 2021) و افزایش (Sepehri et al., 2025; Ali et al., 2018) طول ساقه و همچنین افزایش تعداد و سطح برگ (Al-Dulime & Al-Mohammedi, 2023; Hussain et al., 2019) را گزارش کرده‌اند. به نظر می‌رسد که نقش تیدیازورون در افزایش محتوای مواد مغذی و کربوهیدرات برگ‌ها، به‌دلیل نقش سیتوکینین‌ها در تحریک رشد برگ‌ها و همچنین افزایش سرعت رشد است؛ زیرا علاوه‌بر نقش آن در جذب و تجمع عناصر مغذی از تمام قسمت‌های گیاه به مکان‌های فعال آن، باعث افزایش راندمان رشد می‌شود (Al-Dulime & Al-Mohammedi, 2023).

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر ساده تنش کم‌آبیاری بر عمر گل روی بوته و وزن تر و خشک گل معنی‌دار شد (جدول ۱). اثر ساده تیدیازورون نیز بر وزن تر و خشک گل تأثیر معنی‌داری داشت (جدول ۱). اثر متقابل تنش کم‌آبیاری و تیدیازورن هم بر مدت زمان ظهور غنچه گل و قطر گل معنی‌دار شد (جدول ۱). مقایسه میانگین اثر ساده تنش کم‌آبیاری نشان داد که اعمال تنش کم‌آبیاری باعث کاهش قابل توج وزن تر و خشک گل و همچنین عمر گل روی بوته شد (جدول ۴). تیمار ۲۰ درصد آب قابل دسترس، کمترین وزن تر و خشک گل و عمر گل روی بوته (به‌ترتیب ۳۵/۳۱، ۳۲ و ۱۱/۱۱ درصد کاهش) را در مقایسه با شاهد نشان داد. محلول‌پاشی تیدیازورون باعث افزایش وزن تر و خشک گل شد و در غلظت پنج میلی‌گرم در لیتر بیشترین مقادیر وزن تر و خشک گل (۸/۱۷ و ۸/۳۶ درصد افزایش) نسبت به ج شاهد به دست آمد.

مقایسه میانگین اثر متقابل تنش کم‌آبیاری و تیدیازورون نشان داد که اعمال تنش کم‌آبیاری باعث افزایش مدت زمان ظهور غنچه گل شد، امّا از قطر گل کاسته شد (جدول ۵). به‌طوری که تیمار ۲۰ درصد آب قابل دسترس باعث هشت درصد افزایش مدت زمان ظهور گل و همچنین ۱۵/۸۷ درصد کاهش قطر گل در مقایسه با شاهد شد. کاربرد تیدیازورون بسته به سطح تنش و غلظت مورد استفاده تأثیرات متفاوتی به همراه داشت. در تنش ملایم، محلول‌پاشی تیدیازورون، مدت زمان ظهور غنچه گل را کاهش داد، امّا در تنش شدید باعث تأخیر ظهور غنچه گل شد. بااین‌وجود، محلول‌پاشی تیدیازورون به‌خصوص در غلظت پنج میلی‌گرم در لیتر در سطوح تنش ۵۰ و ۲۰ درصد آب قابل دسترس باعث افزایش قطر گل (به‌ترتیب ۵/۳۴ و ۱۲/۶۹ درصد) نسبت به شاهد شد. بااین‌وجود، کمترین مدت زمان ظهور غنچه گل و قطر گل در شاهد مشاهده شد.

تحقیقات نشان داده است که تنش خشکی، تأثیر منفی مستقیمی بر فرآیندهای تولیدمثلی گیاهان دارد (Sepehri et al., 2025; Guo et al., 2023; Zomorrodi et al., 2022). نتایج سپهری و همکاران (Sepehri et al., 2025) نشان داد که تنش خشکی باعث کاهش تعداد گل و وزن خشک گل شد. بااین‌حال، گیاهانی که با تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی (سیتوکینین، اکسین و اسید جیبرلیک) تیمار شدند، تعداد گل و وزن خشک گل بیشتری نسبت به شاهد داشتند. تنش خشکی از طریق تأخیر در زمان گل‌دهی بر رشد و نمو جوانه گل تأثیر می‌گذارد و منجر به کاهش عملکرد در سال بعد می‌شود. خشکی مداوم و غیرکشنده نیز می‌تواند باعث خشک شدن تدریجی و ریزش جوانه‌های گل و همچنین توقف رشد اندام‌های گل شود (Guo et al., 2023). بااین‌وجود، سیتوکینین‌ها، نقش‌های تنظیمی مهمی در سنتز پروتئین، فعالیت آنزیم و متابولیسم سلولی دارند و می‌توانند مقاومت گیاه به خشکی را بهبود بخشند (Arli & Noli, 2024). نتایج ژائو و همکاران (Guo et al., 2023)، افزایش قابل توجه محتوای سیتوکینین در ۴۵ روز تیمار تنش خشکی را نشان داد که مشخص می‌کند، سیتوکینین‌ها و آبسیزیک اسید، اثرات آنتاگونیستی بر مادگی و پرچم‌های کاملیا (*Camellia oleifera*) دارند.

جدول ۱- تجزیه واریانس تأثیر تیدیازورون بر شاخص‌های رشدی گیاه پروانش تحت تنش کم‌آبیاری

Table 1- Analysis of variance for the effect of thidiazuron on growth indices of periwinkle (*Catharanthus roseus*) under water deficit stress

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی d.f	ارتفاع گیاه Plant height	قطر ساقه Stem diameter	طول ساقه Stem length	وزن تر ساقه Stem fresh weight	وزن خشک ساقه Stem dry weight	تعداد برگ Leaves number	سطح برگ Leaves area	وزن تر برگ Leaves feresh weight	وزن خشک برگ Leaves dry weight	ظهور غنچه Flower bud opening	قطر گل Flower diameter
کم‌آبیاری Water deficit stress	2	80.14**	8.08**	36.02**	34.40**	1.23**	68.08**	930.7**	10.96**	0.67**	122.3**	0.012ns
تیدیازورون TDZ	2	16.52**	20.23**	5.68**	8.79**	0.41**	3.58**	6.8ns	0.87*	0.05**	158.3**	0.002ns
کم‌آبیاری × تیدیازورون Water deficit stress × TDZ	4	1.35ns	1.21ns	0.27ns	1.18**	0.09**	0.54ns	32.5**	0.85**	0.02**	186.6**	0.046**
خطا Error	24	1.35	0.49	0.51	0.08	0.006	0.61	6.8	0.18	0.002	1.02	0.006
ضریب تغییرات C.V (%)	-	8.32	16.40	7.66	9.05	13.70	6.19	6.44	18.93	10.50	0.78	17.75

ns، ** و *: به‌ترتیب عدم معنی‌دار، و معنی‌دار در سطح احتمال یک و پنج درصد.

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

ادامه جدول ۱- تجزیه واریانس تأثیر تیدیازورون بر شاخص‌های رشدی گیاه پروانش تحت تنش کم‌آبیاری

Continued Table 1 - Analysis of variance for the effect of thidiazuron on growth indices of periwinkle (*Catharanthus roseus*) under water deficit stress

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی d.f	وزن تر گل Flower fresh weight	وزن خشک گل Flower dry weight	عمر گل روی بوته Inflorescence longevity	شاخص تحمل به تنش Stress tolerance index	وزن خشک کل Total dry weight	وزن خشک ریشه Root dry weight	وزن تر ریشه Root fresh weight	حجم ریشه Root volume	طول ریشه Root length	قطر ریشه Root diameter
کم‌آبیاری Water deficit stress	2	0.01312**	0.000331**	2.68*	1676.0**	0.61**	0.36**	34.42**	54.84**	9.25**	1.62**
تیدیازورون TDZ	2	0.00040**	0.000015**	0.92^{ns}	17814.8**	6.50**	0.01*	1.63*	3.17**	11.11**	0.53*
کم‌آبیاری × تیدیازورون Water deficit TDZ × stress	4	0.00004^{ns}	0.000001^{ns}	0.34^{ns}	198.2**	0.07**	0.001^{ns}	0.67^{ns}	0.63^{ns}	8.06**	0.21^{ns}
خطای آزمایشی Error	24	0.00010	0.000001	0.58	6.7	0.01	0.003	0.29	0.25	0.71	0.10
ضریب تغییرات C.V (%)	-	7.32	3.70	10.07	3.32	8.65	14.60	14.44	10.87	5.50	13.16

^{ns}، ** و *: به‌ترتیب عدم معنی‌دار، و معنی‌دار در سطح احتمال یک و پنج درصد.

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

جدول ۲- تجزیه واریانس تأثیر تیدیازورون بر تبادلات گازی گیاه پروانش تحت تنش کم‌آبیاری

Table 2- Analysis of variance of the effect of TDZ on gas exchange of periwinkle (*Catharanthus roseus*) plant under water deficit stress

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی d.f	سرعت فتوسنتز Photosynthesis rate	هدایت روزنه ای Stomatal conductance	سرعت تعرق Transpiration rate	دی اکسید کربن درون سلولی Internal CO_2	هدایت مزوفیلی Mesophilic conductance	کارآیی مصرف آب فتوسنتزی Photosynthetic water use efficiency
تنش کم‌آبیاری water deficit stress	2	441.34**	65143.4**	88.73**	0.001513**	68400.1**	18.28**
تیدیازورون TDZ	2	7.09**	490.3**	0.45^{ns}	0.000170**	1965.8**	0.03*
تنش کم‌آبیاری × تیدیازورون water deficit stress × TDZ	4	6.41**	202.9**	4.23**	0.000047**	1429.4**	0.03**
خطا Error	24	0.55	7.9	0.006	7.5	0.00001	0.39
ضریب تغییرات C.V (%)	-	5.86	1.12	4.52	0.88	8.11	6.81

^{ns}، ** و *: به‌ترتیب عدم معنی‌دار، و معنی‌دار در سطح احتمال یک و پنج درصد.

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

جدول ۳- تجزیه واریانس تأثیر تیدیازورون بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه پروانش تحت تنش کم‌آبیاری

Table 3- Analysis of variance of the effect of TDZ on physiological and biochemical traits of periwinkle (*Catharanthus roseus*) plant under water deficit stress

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی d.f	محتوای نسبی آب Relative water content	نشت الکترولیت Electrolyte leakage	مالون‌دی‌آلدئید Malondialdehyde	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل کل Total chlorophyll	کارتنوئید Carotenoid	شاخص ثبات کلروفیل Chlorophyll stability index	پراکسیداز Peroxidase	آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase
تنش کم‌آبیاری water deficit stress	2	2451.34**	950.52**	0.272**	44.27**	15.37**	111.81**	1.52**	300.6**	0.014105**	0.001031**
تیدیازورون TDZ	2	169.0**	182.41**	0.046**	1.75*	0.38**	3.75**	0.49**	9852.1**	0.001776**	0.000138**
کم‌آبیاری × تیدیازورون water deficit stress × TDZ	4	27.65*	52.04**	0.004ns	0.31ns	0.02ns	0.49ns	0.07*	46.1**	0.000294**	0.000033**
خطا Error	24	8.04	9.13	0.003	0.40	0.05	0.67	0.02	5.7	0.000008	0.000002
ضریب تغییرات C.V (%)	-	3.94	10.79	10.49	11.98	8.71	10.30	8.97	3.19	6.11	0.003

ns، ** و *: به‌ترتیب عدم معنی‌دار، و معنی‌دار 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 ٤- اثر ساده تنش کم‌آبیاری و تیدیازورون بر صفات رشدی گیاه پروانش

Table 4- Simple effect of water deficit stress and TDZ on growth traits of periwinkle (*Catharanthus roseus*) plant

تیمار Treatment		ارتفاع گیاه Plant height (cm)	قطر ساقه Stem diameter (mm)	طول ساقه Stem length (cm)	تعداد برگ Leaves number (per plant)	عمر گل روی بوته Inflorescence longevity (day)	وزن تر گل Flower fresh weight (g)	وزن خشک گل Flower dry weight (g)	قطر ریشه Root diameter (mm)
تنش کم‌آبیاری Water deficit stress (%AWC)	80	16.54 a	4.96 a	11.25 a	15.3 a	8.1 a	0.1775 a	0.0328 a	2.84 a
	50	14.08 b	4.51 a	9.04 b	11.9 b	7.8 ab	0.1275 b	0.0277 b	2.32 b
	20	11.37 c	3.36 b	7.83 c	10.8 c	7.2 b	0.1150 c	0.0223 c	2.13 b
تیدیازورون TDZ (mg.L^{-1})	0	12.66 b	3.57 b	8.67 c	12.8 a	-	0.1333 b	0.0263 b	2.24 b
	2.5	14.87 a	5.78 a	9.42 b	12.1 b	-	0.1425 a	0.0278 a	2.39 ab
	5	14.45 a	3.48 b	10.04 a	13.2 a	-	0.1442 a	0.0285 a	2.65 a

*حروف متفاوت در سطوح مختلف هر تیمار، بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌دار را در سطح احتمال ۵ درصد نشان می‌دهند.

*Different letters at various levels of each treatment indicate significant differences based on the LSD test at the 5% probability level.

هورمون‌های گیاهی، مولکول‌های سیگنال‌دهنده‌ای هستند که به گیاهان اجازه می‌دهند تغییرات در محیط خارجی خود را حس کنند، رشد را تنظیم کنند، در برابر شرایط نامساعد محیطی مقاومت کنند و بقای خود را حفظ کنند. هرچند در گیاهان، مجموعه‌ای از سازوکارهای سازگاری برای کاهش آسیب از طریق تنظیم سنتز و انتقال سیگنال هورمون‌های درون‌زا فعال می‌شوند (Guo et al., 2023).

تجزیه واریانس داده‌های حاصل از این پژوهش نشان داد که اثر ساده تنش کم‌آبیاری و تیدیازورون بر ویژگی‌های ریشه (قطر، حجم، وزن تر و خشک) معنی‌دار شد (جدول ۱). اثر متقابل تنش کم‌آبیاری و تیدیازورون نیز بر طول ریشه معنی‌دار شد (جدول ۱). مقایسه میانگین اثر ساده تنش کم‌آبیاری نشان داد که با افزایش سطح تنش کم‌آبیاری از قطر، حجم و وزن تر و خشک ریشه کاسته شد (جدول ۴ و ۶)، به‌طوری که در سطح ۲۰ درصد آب قابل دسترس به‌ترتیب کاهش ۲۵، ۵۸/۵، ۵۸/۷ و ۵۶/۳ درصدی در شاخص‌های فوق نسبت به شاهد ثبت گردید. استفاده از تیدیازورون نیز به‌خصوص در غلظت پنج میلی‌گرم در لیتر باعث افزایش ۱۸/۳، ۶، ۲ و ۶ درصدی قطر، حجم و وزن تر و خشک ریشه در مقایسه با شاهد شد. مقایسه میانگین اثر متقابل تنش کم‌آبیاری و تیدیازورون نشان داد که طول ریشه تحت تأثیر تنش کم‌آبیاری در سطح ۵۰ درصد آب قابل دسترس افزایش قابل توجهی (۲۰ درصد افزایش نسبت به شاهد) نشان داد، امّا در سطح ۲۰ درصد آب قابل دسترس کاهش پیدا کرد (جدول ۵). کاربرد تیدیازورون در سطوح ۸۰ و ۵۰ درصد آب قابل دسترس به‌ترتیب افزایش و کاهش طول ریشه را به همراه داشت. بااین‌وجود بیشترین و کمترین طول ریشه به‌ترتیب در سطح ۵۰ درصد آب قابل دسترس (بدون تیدیازورون) و ۲۰ درصد آب قابل دسترس (به همراه ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر تیدیازورون) به دست آمد. گیاهان برای بهبود حفظ آب و مقاومت به خشکی، سیستم ریشه‌ای و ظرفیت جذب آب را نیز افزایش می‌دهند (Liu et al., 2022). تنش خشکی باعث کاهش مقدار اکسین شده و انتقال آن از واحدهای سازنده به مریستم انتهایی و برگ‌ها را دچار اختلال می‌کند. از طرفی دیگر، تولید سیتوکینین در ریشه و انتقال آن به برگ‌ها نیز کاهش یافته و تجزیه آن در ریشه و برگ اتفاق می‌افتد (Yasemi et al., 2024). همچنین وضعیت مواد غذایی گیاه باعث تنظیم سیتوکینین می‌شود و نسبت سیتوکینین به اکسین نیز به‌نوبه خود، سرعت نسبی ریشه و اندام هوایی را تعیین می‌دهد (Taiz & Zeiger, 2006). نتایج حسین و همکاران (Hussain et al., 2019) روی گیاهان تربچه (*Raphanus sativus* L.) نشان داد که کاربرد تیدیازورون باعث افزایش ویژگی‌های ریشه گیاهان تحت تیمار شد. رشد گیاهان به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم متأثر از هورمون‌های گیاهی است که تحت تأثیر خشکی دچار اختلال شده و متعاقب آن رشد و نمو گیاه را کاهش می‌دهد. افزایش رشد ریشه در اثر کاربرد تیدیازورون نیز ممکن است به‌دلیل حفظ تعادل هورمونی در گیاهان باشد (Liu et al., 2022).

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر ساده تنش کم‌آبیاری و تیدیازورون و همچنین اثر متقابل تنش کم‌آبیاری و تیدیازورون تأثیر معنی‌داری بر وزن خشک کل گیاه و شاخص تحمل به تنش دارد (جدول ۱). مقایسه میانگین اثر متقابل تنش کم‌آبیاری و تیدیازورون نشان داد که وزن خشک کل گیاه پروانش و شاخص تحمل به تنش با افزایش سطح تنش کم‌آبیاری به‌طور قابل توجهی کاهش پیدا کردند، به‌طوری که در سطح ۲۰ درصد آب قابل دسترس، کاهش ۶۵/۲۱ و ۶۵ درصدی در مقایسه با شاهد نشان دادند (جدول ۷). محلول‌پاشی تیدیازورون باعث افزایش وزن خشک کل گیاه و شاخص تحمل به تنش گیاهان در سطوح مختلف تنش کم‌آبیاری شد و در سطح ۲۰ درصد آب قابل دسترس، غلظت ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر تیدیازورون به‌ترتیب سبب افزایش ۵۳/۸ و ۵۱/۴۲ درصدی وزن خشک کل گیاه و شاخص تحمل به تنش گیاهان در مقایسه با تیمار ۲۰ درصد آب قابل دسترس بدون محلول‌پاشی شدند.

تنش خشکی بسته به سطح تنش و مرحله نموی گیاه از طریق کاهش سطح برگ، پیری برگ، افزایش مقاومت روزنه‌ای و کاهش مقدار رنگدانه‌های فتوسنتزی، رشد رویشی و عملکرد گیاه را کاهش می‌دهد (Chieb & Gachomo, 2023). بااین‌وجود، تأثیر تیدیازورون می‌تواند از طریق سیتوکینین باعث افزایش تقسیم سلولی، تجمع کلروفیل، بیوسنتز رنگیزه‌های فتوسنتزی (تبدیل اتیوپلاست به کلروپلاست) و تأخیر در پیری برگ گیاهان شود (Taiz & Zeiger, 2006)، تنظیم از پایین‌دست سیتوکینین منجر به بیان سیستم ریشه‌ای شده و نسبت ریشه به شاخساره را افزایش می‌دهد که سطح جذب آب ریشه‌ها را افزایش می‌دهد. از طرفی دیگر، شاخه‌ها و سطح برگ به نسبت کوچک در مقایسه با ریشه‌ها می‌تواند به‌طور مؤثری تعرق گیاه را کاهش دهد (Calvo-Polanco et al., 2019). بنابراین گیاه می‌تواند محتوای نسبی آب نسبتاً بالایی حفظ کند و تحمل به خشکی را بهبود بخشد. علاوه بر این، تنظیم مسیرهای پایین‌دستی سیگنالینگ سیتوکینین می‌تواند از طریق تعدیل سیستم اکسیداتیو و افزایش ظرفیت دفاع آنتی‌اکسیدانی، به بهبود تحمل گیاه به تنش خشکی کمک کند (Calvo-Polanco et al., 2019).

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر متقابل تنش کم‌آبیاری × تیدیازورون بر سرعت فتوسنتز، هدایت روزنه‌ای، تعرق،

دی‌اکسید کربن درون سلولی، هدایت مزوفیلی و کارآیی مصرف آب فتوسنتزی معنی‌دار شد (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل تنش کم‌آبیاری × تیدیازورون نشان داد که سرعت فتوسنتز، سرعت تعرق، هدایت روزنه‌ای، غلظت دی‌اکسید کربن درون سلولی، هدایت مزوفیلی و کارآیی مصرف آب فتوسنتزی تحت تأثیر تنش کم‌آبیاری کاهش پیدا کردند و در سطح ۶۰ درصد ظرفیت زراعی به‌ترتیب کاهش ۷۵/۳۷، ۸۸/۸۵، ۳۶/۵۳،۹۲/۹ و ۶۰/۹۴ درصدی در مقایسه با شاهد نشان دادند (جدول ۷)، امّا کارآیی مصرف آب فتوسنتزی تحت تأثیر تنش کم‌آبیاری و در سطح ۶۰ درصد ظرفیت زراعی، افزایش ۶۹۲ درصدی نسبت به شاهد نشان داد. کاربرد تیدیازورون در سطوح تنش کم‌آبیاری به‌خصوص در سطح ۶۰ درصد ظرفیت زراعی باعث افزایش سرعت فتوسنتز، سرعت تعرق، هدایت روزنه‌ای و هدایت مزوفیلی شد، امّا غلظت دی‌اکسید کربن درون سلولی را کاهش داد. بااین‌وجود، در غلظت ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر در سطح غیرتنش بیشترین سرعت فتوسنتز، سرعت تعرق، هدایت روزنه‌ای و غلظت دی‌اکسید کربن درون سلولی (به‌ترتیب ۱۱/۵، ۴/۹، ۳ و ۶/۶ درصد افزایش در مقایسه با شاهد) به دست آمد. غلظت پنج میلی‌گرم در لیتر تیدیازورون در سطح غیرتنش نیز بیشترین هدایت مزوفیلی (۸/۷ درصد افزایش نسبت به شاهد) را ثبت کرد. کارآیی مصرف آب فتوسنتزی با کاربرد تیدیازورون در اکثر غلظت‌ها روند افزایشی نشان داد و در غلظت ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر در سطح ۲۰ درصد ظرفیت زراعی بالاترین شاخص مورد نظر (۴/۷ درصد افزایش در مقایسه با شاهد سطح ۶۰ درصد ظرفیت زراعی) را ثبت کرد (جدول ۷). تنش خشکی با کاهش هدایت روزنه‌ای و مزوفیلی، انتشار دی‌اکسید کربن، تنفس نوری، انرژی، یکپارچگی غشاء، محتوای رنگدانه، بیوسنتز لیپید و تعادل هورمونی را محدود می‌کند و از این طریق باعث کاهش رشد گیاهان می‌شوند (Chieb & Gachomo, 2023). بااین‌حال، تیدیازورون که به‌عنوان یک سیتوکینین شناخته می‌شود، اثرات دوگانه اکسین و سیتوکینین را دارد و ممکن است تجمع یا سنتز هورمون‌های رشد گیاهی داخلی را تسهیل کند (Arli & Noli, 2024). پیشنهاد شده است که تیدیازورون از طریق فعالیت سیتوکینین نوع آدنین یا با تحریک سیتوکینین‌های درون‌زا یا با اتصال به گیرنده‌های سیتوکینین عمل می‌کند (Arli & Noli, 2024). سیتوکینین‌ها نیز از طریق تحریک تنظیم اسمزی، تأثیرات مخرب تنش خشکی را کاهش می‌دهند، بااین‌حال در سلول‌های نگهبان روزنه به‌طور مستقیم در القاء قطبی شدن غشاء درگیر بوده و با افزایش فعالیت پمپ پروتون، چرخه آدنیلات و ارتباط سیستم کلسیم –کالمودولین، باعث باز شدن روزنه‌ها شده و منجر به افزایش تعرق و کاهش دمای برگ می‌شود و همچنین کاربرد آن تحت شرایط تنش خشکی از طریق غربال رادیکال‌های آزاد باعث تأخیر در پیری برگ شده و خسارت وارده به غشای سلولی را کاهش می‌دهد (Arli & Noli, 2024).

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر ساده تنش کم‌آبیاری و تیدیازورون بر غلظت مالون دی‌آلدئید معنی‌دار شد (جدول ۳). اثر متقابل تنش کم‌آبیاری × تیدیازورون نیز بر محتوای نسبی آب برگ و نشت الکترولیت معنی‌دار گردید. مقایسه میانگین اثر ساده تنش کم‌آبیاری نشان داد که اعمال تنش کم‌آبیاری باعث افزایش غلظت مالون دی‌آلدئید شد (جدول ۶). تیمار ۲۰ درصد آب قابل دسترس باعث افزایش ۱۱۹ درصدی مقدار شاخص مذکور شد. امّا محلول‌پاشی برگی تیدیازورون منجر به کاهش مقدار مالون دی‌آلدئید شد و در غلظت پنج میلی‌گرم در لیتر، کاهش ۲۲ درصدی در مقایسه با شاهد نشان داد. بررسی نتایج مقایسه میانگین اثر تنش کم‌آبیاری و تیدیازورون نشان داد که با افزایش سطح تنش کم‌آبیاری، محتوای نسبی آب برگ کاهش و نشت الکترولیت افزایش پیدا کردند (جدول ۸). محلول‌پاشی تیدیازورون در سطوح مختلف تنش کم‌آبیاری باعث افزایش محتوای نسبی آب برگ و کاهش نشت الکترولیت شد. به‌طوری که در سطح ۶۰ درصد ظرفیت زراعی، غلظت پنج میلی‌گرم در لیتر تیدیازورون باعث افزایش ۲۳ درصدی محتوای نسبی آب برگ و کاهش ۳۱/۸۱ درصدی میزان نشت الکترولیت گیاهان تحت تنش شد. مطالعات روی گیاهان پروانش (Zomorrodi et al., 2022)، کالیا (Guo et al., 2023) و گل شمعدانی معطر (Yasemi et al., 2024) در شرایط تنش خشکی نیز افزایش نشت الکترولیت و مالون دی‌آلدئید و کاهش محتوای نسبی آب برگ را نشان دادند که با پژوهش حاضر هم‌خوانی دارد. در بین اجزای گیاهی، غشای سلولی، اولین قسمتی از سلول است که در مواجهه با تنش خشکی آسیب می‌بیند. تنش خشکی با ایجاد تنش اکسیداتیو و تولید گونه‌های فعال اکسیژن در سلول‌های گیاهی منجر به اکسیداسیون اسیدهای چرب دیواره سلولی شده که در نتیجه با تخریب غشای سلولی و افزایش نفوذپذیری یون‌ها در اثر افزایش حلالیت و پراکسیداسیون چربی‌های غشاء، نشت الکترولیت و محتوای مالون دی‌آلدئید را افزایش و محتوای نسبی آب در گیاهان را کاهش می‌دهد (Demidchik et al., 2014). یاسمی و همکاران (Yasemi et al., 2024) گزارش کرده‌اند که محلول‌پاشی تیدیازورون روی گیاهان شمعدانی معطر تحت شرایط تنش کم‌آبیاری باعث افزایش محتوای نسبی آب برگ و کاهش نشت الکترولیت و محتوای مالون دی‌آلدئید گیاهان شد. مطالعات نشان داده است که سیتوکینین در شرایط تنش با افزایش فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی، باعث حذف رادیکال‌های آزاد شده و ثبات غشاء سلولی را افزایش داده و از این طریق، رشد گیاه را افزایش می‌دهد (Arli & Noli, 2024).

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر ساده تنش کم‌آبیاری و تیدیازورون بر محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی مانند کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل معنی‌دار شد (جدول ۳). اثر متقابل تنش کم‌آبیاری و تیدیازورون نیز بر محتوای کاروتنوئید و شاخص ثبات کلروفیل معنی‌دار گردید (جدول ۳). مقایسه میانگین اثر ساده تنش کم‌آبیاری نشان داد که غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی از جمله کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل تحت تأثیر تنش کم‌آبیاری به‌شدت کاهش پیدا کردند و در سطح ۲۰ درصد آب قابل دسترس به‌ترتیب کاهش ۴۶/۸۰، ۵۲/۱۵ و ۴۸/۶۴ درصدی محتوای کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل به‌دست آمد (جدول ۶). مقایسه میانگین اثر ساده محلول‌پاشی تیدیازورون نشان داد که کاربرد تیدیازورون باعث افزایش مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی شد و در غلظت پنج میلی‌گرم در لیتر، بیشترین مقدار کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل (به‌ترتیب ۱۵/۳۵، ۱۴/۶۹ و ۱۵/۱۳ درصد افزایش) در مقایسه با شاهد به دست آمد (جدول ۶). مقایسه میانگین اثر متقابل تنش کم‌آبیاری و تیدیازورون نشان داد که با افزایش سطح تنش کم‌آبیاری، از محتوای کاروتنوئید و شاخص ثبات کلروفیل کاسته شد (جدول ۸). تیمار ۲۰ درصد آب قابل دسترس نیز کمترین محتوای کاروتنوئید و شاخص ثبات کلروفیل (به‌ترتیب ۴۰ و ۵۲ درصد کاهش) را نسبت به شاهد ثبت کرد. بااین‌وجود، محلول‌پاشی تیدیازورون در تمام سطوح تنش کم‌آبیاری باعث افزایش غلظت کاروتنوئید و شاخص ثبات کلروفیل شد، به‌طوری که غلظت پنج میلی‌گرم در لیتر تیدیازورون در سطح ۲۰ درصد آب قابل دسترس باعث افزایش ۴۹/۱۶ و ۲۹/۱۶ درصدی محتوای کاروتنوئید و شاخص ثبات کلروفیل در مقایسه با شاهد شد.

تحقیقات مختلف روی گیاهان پروانش (Sepehri et al., 2025; Zomorrodi et al., 2022) تأثیر منفی تنش خشکی را گزارش کردند که با داده‌های پژوهش حاضر هم‌خوانی دارد. تنش خشکی از طریق افزایش تولید رادیکال‌های آزاد در سلول باعث تخریب رنگدانه‌ها و پروتئین‌های D_1 و D_2 در فتوسیستم دو می‌شود که در نتیجه سبب بی‌نظمی در غشای تیلاکوئید می‌شود (Luo et al., 2023). نتایج رسولی و همکاران (Rasouli et al., 2015) روی گیاه گل شاخه بریده رز (*Rosa* × *hybrida*) و یاسمی و همکاران (Yasemi et al., 2024) روی گل شمعدانی معطر نشان داد که اعمال تیدیازورون از تخریب کلروفیل جلوگیری کرده و غلظت آن را افزایش داده است که با نتایج پژوهش حاضر هم‌خوانی دارد. مطالعات نشان داده است که سیتوکینین‌ها از طریق کاهش فعالیت آنزیم کلروفیلاز و فعال کردن آنزیم NADH پروتوکلروفیلید ردوکتاز در مسیر بیوسنتز کلروفیل، محتوای کلروفیل را افزایش می‌دهند (Karnwal et al., 2023). تحقیقات روی گیاهان شمعدانی (*Pelargonium zonale*) (Mutui et al., 2008) و آلسترومریا (*Alstroemeria* spp.) (Mutui et al., 2004) نشان داده است که سیتوکینین به‌دلیل تأخیر در تخریب کلروفیل و حفظ قابلیت دستگاه فتوسنتزی از زردی برگ گیاهان جلوگیری می‌کند.

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر متقابل تنش کم‌آبیاری × تیدیازورون بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز معنی‌داری شد (جدول ۳). مقایسه میانگین اثر متقابل تنش کم‌آبیاری و تیدیازورون نشان داد که فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز با افزایش سطح تنش کم‌آبیاری به‌طور قابل توجهی افزایش پیدا کردند، به‌طوری که در سطح ۲۰ درصد آب قابل دسترس به‌ترتیب ۵۲۴ و ۱۷۸ درصد در مقایسه با شاهد افزایش یافتند (جدول ۸). محلول‌پاشی تیدیازورون در سطوح مختلف تنش کم‌آبیاری نیز در هر دو غلظت مورد استفاده باعث افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های مربوطه شد. در مجموع، غلظت پنج میلی‌گرم در لیتر در سطح ۲۰ درصد آب قابل دسترس، بالاترین میزان فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز (۸۸۳ و ۳۶۰ درصد افزایش) را در مقایسه با شاهد نشان دادند. سازگاری گیاهان با محیط خارجی و توانایی آن‌ها در جلوگیری از تنش‌ها و فرآیند پیری، می‌تواند بازتابی از سطح فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان باشد. کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاهان تحت شرایط تنش خشکی، می‌تواند باعث تجمع گونه‌های فعال اکسیژن در بافت‌های آن‌ها شود که به‌نوبه خود می‌تواند منجر به آسیب سمی شود (Luo et al., 2023; Guo et al., 2023). بااین‌وجود، برخی مواقع ممکن است به‌واسطه فعالیت کم فتوسنتزی برای کاهش تولید گونه‌های فعال اکسیژن از طریق کلروپلاست‌ها، سیستم آنزیمی نسبت به تنش‌های محیطی، فعالیت یا حساسیت کمتری داشته باشد (Luo et al., 2023). نتایج پژوهش علی و همکاران (Ali et al., 2018) روی *Ajuga bracteosa* نشان داد که تأثیر تیدیازورون به غلظت و مرحله رشد گیاه بستگی دارد، به‌طوری که تیدیازورون در غلظت ۱/۲ میلی‌گرم در لیتر، فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز را در ساقه‌ها افزایش داد. بااین‌وجود، حداکثر فعالیت آنزیم کاتالاز در غلظت بالای از تیدیازورون (پنج میلی‌گرم در لیتر) مشاهده شد. تنظیم از پایین‌دست سیتوکینین می‌تواند با تولید بیش از حد سیتوکینین اکسیداز به دست آید و منجر به کاهش رشد گیاهان و افزایش محتوای ترکیبات محافظت‌کننده شده و تحمل خشکی در گیاهان شمعدانی معطر (Yasemi et al., 2024) و بادام زمینی (*Arachis hypogaea* L.) (Khandal et al., 2020) را افزایش دهد.

جدول ۵- اثر متقابل تیدیازورون × تنش کم‌آبیاری بر ویژگی‌های صفات رشدی گیاه پروانش

Table 5- The interaction Effect of TDZ on growth characteristics of periwinkle (*Catharanthus roseus*) plant under water deficit stress

تنش کم‌آبیاری Water deficit stress (%AWC)	تیدیازورون TDZ (mg.L^{-1})	وزن تر ساقه Stem fresh weight (g)	وزن خشک ساقه Stem dry weight (g)	سطح برگ Leaves area (cm^2)	وزن تر برگ Leaves fresh weight (g)	وزن خشک برگ Leaves dry weight (g)	ظهور غنچه Flower bud opening (day)	قطر گل Flower diameter (mm)	طول ریشه Root length (cm)
80	0	3.51 ^{c}	0.55 ^{c}	52.50 ^{a}	3.68 ^{a}	0.73 ^{b}	120.3 ^{g}	1.46 ^{a}	15.0 ^{b}
	2.5	6.24 ^{a}	1.19 ^{a}	50.55 ^{b}	2.56 ^{b}	0.84 ^{a}	138.3 ^{b}	1.20 ^{d}	15.0 ^{b}
	5	5.58 ^{b}	1.14 ^{a}	47.12 ^{b}	3.72 ^{a}	0.59 ^{c}	128.8 ^{de}	1.34 ^{bc}	17.7 ^{a}
50	0	2.05 ^{de}	0.40 ^{d}	37.82 ^{cd}	1.92 ^{bcd}	0.37 ^{ef}	130.0 ^{d}	1.31 ^{bcd}	18.0 ^{a}
	2.5	3.33 ^{c}	0.60 ^{b}	39.62 ^{c}	2.19 ^{bc}	0.48 ^{d}	127.0 ^{f}	1.33 ^{bc}	14.2 ^{bc}
	5	2.33 ^{de}	0.47 ^{cd}	40.47 ^{c}	2.22 ^{bc}	0.44 ^{de}	128.3 ^{ef}	1.38 ^{ab}	15.2 ^{b}
20	0	1.34 ^{f}	0.22 ^{e}	29.22 ^{f}	0.97 ^{e}	0.17 ^{h}	130.0 ^{de}	1.26 ^{cd}	14.7 ^{b}
	2.5	2.45 ^{d}	0.45 ^{c}	33.85 ^{e}	1.84 ^{cd}	0.31 ^{fg}	131.5 ^{c}	1.42 ^{ab}	13.5 ^{c}
	5	1.91 ^{e}	0.36 ^{d}	34.72 ^{de}	1.84 ^{cd}	0.27 ^{g}	142.3 ^{a}	1.42 ^{ab}	14.7 ^{b}

*حروف مختلف، بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌دار را در سطح احتمال ۵ درصد نشان می‌دهند.

Different letters indicate significant differences at the 5% probability level based on the LSD test.

جدول ٦- اثر ساده تنش کم‌آبیاری و تیدیازورون بر صفات رشدی و رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه پروانش

Table 6- Simple effect of water deficit stress and TDZ on growth traits and photosynthetic pigments of periwinkle (*Catharanthus roseus*) plant

تیمار Treatment		حجم ریشه Root volume (cm^3)	وزن خشک ریشه Root dry weight (g)	وزن تر ریشه Root dry fresh (g)	مالون دی‌آلدئید MDA ($mg.g^{-1}_{FW}$)	کلروفیل a Chlorophyll a ($mg.g^{-1}_{FW}$)	کلروفیل b Chlorophyll b ($mg.g^{-1}_{FW}$)	کلروفیل کل ab Chlorophyll ($mg.g^{-1}_{FW}$)
تنش کم‌آبیاری Water deficit stress (%AWC)	80	7.0 a	0.591 a	5.633 a	0.249 c	7.52 a	3.95 a	11.47 a
	50	4.1 b	0.335 b	3.353 b	0.364 b	4.42 b	2.11 b	6.53 b
	20	2.9 c	0.258 c	2.324 c	0.547 a	4.00 b	1.89 c	5.89 b
تیدیازورون TDZ ($mg.L^{-1}$)	0	4.8 a	0.399 ab	3.925 a	0.458 a	4.95 b	2.45 b	7.40 b
	2.5	4.1 b	0.362 b	3.348 b	0.346 b	5.29 ab	2.68 a	7.97 ab
	5	5.1 a	0.423 a	4.037 a	0.356 b	5.71 a	2.81 a	8.52 a

*حروف متفاوت در سطوح مختلف هر تیمار، بر اساس آزمون LSD، اختلاف معنی‌دار را در سطح احتمال ۵ درصد نشان می‌دهند.

*Different letters at various levels of each treatment indicate significant differences based on the LSD test at the 5% probability level.

جدول ۷- اثر متقابل تیدیازورون × تنش کم‌آبیاری بر صفات رشدی و تبادلات گازی گیاه پروانش

Table 7- The interaction effect of TDZ × water deficit stress on growth traits and gas exchange of periwinkle (*Catharanthus roseus*) plant

تنش کم‌آبیاری Water deficit stress (%AWC)	تیدیازورون TDZ ($mg.L^{-1}$)	وزن خشک کل Total dry weight (g)	شاخص تحمل به تنش Stress tolerance index (%)	سرعت فتوسنتز Photosynthesis rate ($\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$)	هدایت روزنه‌ای Stomatal conductance ($mmol.m^{-2}.s^{-1}$)	سرعت تعرق Transpiration rate ($mmol.m^{-2}.s^{-1}$)	دی‌اکسید کربن درون‌سلولی Internal CO_2 ($\mu mol.mol^{-1}$)	هدایت مزوفیلی Mesophilic conductance ($mmol.m^{-2}.s^{-1}$)	کارآیی مصرف آب فتوسنتزی Photosynthetic water use efficiency ($\mu mol\ CO_2.mol^{-1}\ H_2O$)
80	0	1.906 c	100 c	18.19 b	314.0 b	3.23 b	390 b	0.0466 ab	5.63 d
	2.5	2.641 a	138 a	20.29 a	323.7 a	3.39 a	416 a	0.0487 a	5.99 d
	5	2.384 b	125 b	18.11 b	310.0 b	3.11 b	359 c	0.0507 a	5.84 d
50	0	1.165 ef	61 f	12.41 d	266.7 e	1.37 d	345 cd	0.0360 c	9.04 c
	2.5	1.400 d	73 d	13.58 d	282.0 d	1.49 cd	321 e	0.0423 b	9.15 c
	5	1.298 de	68 e	16.60 c	293.3 c	1.54 c	328 de	0.0506 a	10.75 b
20	0	0.663 h	35 h	4.48 f	144.7 g	0.36 e	246 f	0.0182 e	12.55 a
	2.5	1.020 fg	53 g	5.81 e	160.7 f	0.44 e	200 g	0.0292 d	13.14 a
	5	0.961 g	50 g	4.99 ef	157.0 f	0.48 e	205 g	0.0243 d	10.44 b

*حروف مختلف، بر اساس آزمون LSD، اختلاف معنی‌دار را در سطح احتمال ۵ درصد نشان می‌دهند.

* Different letters indicate significant differences at the 5% probability level based on the LSD test.

جدول ۸- اثر متقابل تیدیازورون × تنش کم‌آبیاری بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه پروانش

Table 8- The interaction effect of TDZ × water deficit stress on physiological and biochemical characteristics of periwinkle (*Catharanthus roseus*) plant

تنش کم‌آبیاری Water deficit stress (%AWC)	تیدیازورون TDZ (mg.L^{-1})	محتوای نسبی آب Relative leaf water content (%)	نشت الکترولیت Electrolyte leakage (%)	کارتنوئید Carotenoid (mg.g^{-1} FW)	شاخص ثبات کلروفیل Chlorophyll stability index (%)	پراکسیداز Peroxidase (µmol.min^{-1}.g^{-1} FW)	آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase (µmol.min^{-1}.g^{-1} FW)
80	0	86 ^{ab}	19 ^{d}	2.00 ^{bc}	100 ^{c}	0.0110 ^{i}	0.00657 ^{f}
	2.5	85 ^{b}	19 ^{d}	2.10 ^{b}	109 ^{b}	0.0175 ^{h}	0.00699 ^{f}
	5	90 ^{a}	18 ^{d}	2.48 ^{a}	114 ^{a}	0.0227 ^{g}	0.00727 ^{f}
50	0	67 ^{de}	35 ^{b}	1.56 ^{e}	60 ^{d}	0.0268 ^{f}	0.00828 ^{f}
	2.5	71 ^{cd}	26 ^{c}	1.71 ^{de}	61 ^{d}	0.0391 ^{e}	0.01330 ^{e}
	5	74 ^{c}	27 ^{c}	1.70 ^{de}	63 ^{d}	0.0476 ^{d}	0.01550 ^{d}
20	0	52 ^{g}	44 ^{a}	1.20 ^{f}	48 ^{f}	0.0687 ^{c}	0.01830 ^{c}
	2.5	60 ^{f}	35 ^{b}	1.56 ^{de}	56 ^{e}	0.0752 ^{b}	0.02650 ^{b}
	5	64 ^{e}	30 ^{c}	1.79 ^{cd}	62 ^{d}	0.1082 ^{a}	0.03023 ^{a}

*حروف مختلف، بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌دار را در سطح احتمال ۵ درصد نشان می‌دهند.

* Different letters indicate significant differences at the 5% probability level based on the LSD test.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده می‌توان اظهار داشت که تیدیازورون می‌تواند از طریق بهبود تبادلات گازی، افزایش رشد ریشه و فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی، مقاومت گیاهان به تنش کم‌آبیاری را افزایش دهد. در بین غلظت‌های تیدیازورون نیز غلظت پنج میلی‌گرم در لیتر، تأثیر به مراتب بهتری روی رشد و نمو گیاهان به‌همراه داشت. بااین‌وجود، برای بررسی دقیق‌تر تأثیر تیدیازورون بر رشد و نمو گیاهان تحت شرایط تنش کم‌آبیاری در گیاهان مختلف، نیاز به تحقیقات بیشتری در این زمینه است.

References

1. Al-Dulime, M. A., & Al-Mohammedi, M. (2023). Effect of spraying with growth regulators brassinolide and thidiazuron on the chemical content of leaves and pods of three okra hybrids under protected cultivation conditions. *In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, *1252*(1), 012089. https://doi.org/10.1088/1755-1315/1252/1/012089
2. Ali, H., Khan, M., Kayani, W. K., Khan, T., & Khan, R. S. (2018). Thidiazuron regulated growth, secondary metabolism and essential oil profiles in shoot cultures of *Ajuga bracteosa*. *Industrial Crops and Products*, *121*, 418-427. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.05.043
3. Allahbakhsh, R., Chamani, E., Ghanbari, A., & Estaji, A. (2020). The influence of thidiazuron (TDZ) and silver thiosulfate (STS) on morphological and phytochemical characteristics under in-vitro condition in evening primrose. *Plant Process and Function*, *9*(36), 251-261. (In Persian). http://jispp.iut.ac.ir/article-1-874-fa.html
4. Arli, N. M., & Noli, Z. A. (2024). Shoot induction of dendrobium lasianthera JJ smith with several types of cytokinins through in vitro culture. *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA*, *10*(4), 2059-2064. https://doi.org/10.29303/jppipa.v10i4.5324
5. Calvo-Polanco, M., Armada, E., Zamarreño, A. M., García-Mina, J. M., & Aroca, R. (2019). Local root ABA/cytokinin status and aquaporins regulate poplar responses to mild drought stress independently of the ectomycorrhizal fungus *laccaria bicolor*. *Journal of Experimental Botany*, *70*(21), 6437-6446. https://doi.org/10.1093/jxb/erz389
6. Celikel, F. G., Zhang, Q., Zhang, Y., Reid, M. S., & Jiang, C. Z. (2021). A cytokinin analog thidiazuron suppresses shoot growth in potted rose plants via the gibberellic acid pathway. *Frontiers in Plant Science*, *12*, 639717. https://doi.org/10.3389/fpls.2021.639717
7. Chieb, M., & Gachomo, E. W. (2023). The role of plant growth promoting rhizobacteria in plant drought stress responses. *BMC Plant Biology*, *23*(1), 407. https://doi.org/10.1186/s12870-023-04403-8
8. Demidchik, V., Straltsova, D., Medvedev, S. S., Pozhvanov, G. A., Sokolik, A., & Yurin, V. (2014). Stress-induced electrolyte leakage: the role of K^+-permeable channels and involvement in programmed cell death and metabolic adjustment. *Journal of Experimental Botany*, *65*(5), 1259-1270. https://doi.org/10.1093/jxb/eru004
9. Dewir, Y. H., Nurmansyah, Naidoo, Y., & da Silva, J. A. T. (2018). Thidiazuron-induced abnormalities in plant tissue cultures. *Plant Cell Reports*, *37*(11), 1451–1470. https://doi.org/10.1007/s00299-018-2326-1
10. Erland, L. A., Giebelhaus, R. T., Victor, J. M., Murch, S. J., & Saxena, P. K. (2020). The morphoregulatory role of thidiazuron: metabolomics-guided hypothesis generation for mechanisms of activity. *Biomolecules*, *10*(9), 1253. https://doi.org/10.3390/biom10091253
11. 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
12. Guo, P. R., Wu, L. L., Wang, Y., Liu, D., & Li, J. A. (2023). Effects of drought stress on the morphological structure and flower organ physiological characteristics of *Camellia oleifera* flower buds. *Plants*, *12*, 2585. https://doi.org/10.3390/plants12132585
13. Hussain, F., Hadi, F., & Akbar, F. (2019). Magnesium oxide nanoparticles and thidiazuron enhance lead phytoaccumulation and antioxidative response in *Raphanus sativus* L. *Environmental Science and Pollution Research*, *26*, 30333-30347. https://doi.org/10.1007/s11356-019-06206-7
14. Jiang, T., Luo, C., Wan, W., Liang, R., Lu, T., Li, Y., & He, X. (2024). Effects of thidiazuron on the quality and storage properties of mango fruit during postharvest. *Food Quality and Safety*, *8*, 47. https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyad047
15. Karnwal, A., Shrivastava, S., Al-Tawaha, A. S., Kumar, G., Kumar, A., & Kumar, A. (2023). PGPR-mediated breakthroughs in plant stress tolerance for sustainable farming. *Journal of Plant Growth Regulation*, 1-17. https://doi.org/10.1007/s00344-023-11013-z
16. Khan, A., & Singh, A. V. (2021). Multifarious effect of ACC deaminase and EPS producing *Pseudomonas* sp. and *Serratia marcescens* to augment drought stress tolerance and nutrient status of wheat. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *37*, 1-17. https://doi.org/10.1007/s11274-021-03166-4
17. Khandal, H., Gupta, S. K., Dwivedi, V., Mandal, D., Sharma, N. K., Vishwakarma, N. K., & Chattopadhyay, D. (2020). Root-specific expression of chickpea cytokinin oxidase/dehydrogenase 6 leads to enhanced root growth, drought tolerance

and yield without compromising nodulation. *Plant Biotechnology Journal*, *18*(11), 2225-2240. https://doi.org/10.1111/pbi.13378
18. Li, F., Wu, Q., Liao, B., Yu, K., Huo, Y., Meng, L., & Li, Z. (2022). Thidiazuron promotes leaf abscission by regulating the crosstalk complexities between ethylene, auxin, and cytokinin in cotton. *International Journal of Molecular Sciences*, *23*(5), 2696. https://doi.org/10.3390/ijms23052696
19. Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophyll and carotenoids–pigments of photosynthetic biomembrances. *Colowick SP, Kaplan NO Methods in Enzymology*, *148*, 350-382. https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1
20. Liu, Y., Wang, X., Wang, X., Gao, W., & You, C. (2022). Identification and functional characterization of apple MdCKX5. 2 in root development and abiotic stress tolerance. *Horticulturae*, *8*(1), 62. https://doi.org/10.3390/horticulturae8010062
21. Luo, Y., Hu, T., Huo, Y., Wang, L., Zhang, L., & Yan, R. (2023). Effects of exogenous melatonin on chrysanthemum physiological characteristics and photosynthesis under drought stress. *Horticulturae*, *9*, 106. https://doi.org/10.3390/horticulturae9010106
22. 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
23. 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
24. Mutui, T. M., Mibus, H., & Serek, M. (2008). Effects of phytohormones and dark storage on postharvest quality of *Pelargonium* cuttings. *African Journal of Horticultural Science*, *1*(1), 19-32.
25. Mutui, T. M., Emongor, M. J., & Hutchinson, M. J. (2004). Influence of plant growth regulators on postharvest characteristics of alstroemeria cut flowers. *Discovery and Innovation*, *16*(3), 195-201. https://doi.org/10.4314/dai.v16i3.15677
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. Rasouli, O., Ahmadi, N., Behmanesh, M., & Nergi, M. D. (2015). Effects of BA and TDZ on postharvest quality and expression of laccase and aquaporin genes in cut rose 'Sparkle'. *South African Journal of Botany*, *99*, 75-79. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2015.03.191
28. 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
29. Sepehri, B., Tohidi-Moghadam, H. R., Ghooshchi, F., Oveysi, M., & Kasraie, P. (2025). Evaluation of metallic nanoparticles and plant growth regulators affecting *Catharanthus roseus* L. performance under water-deficit stress. *International Journal of Horticultural Science and Technology*, *12*(3), 677-692. https://doi.org/10.22059/ijhst.2024.368022.726
30. Taiz, L. D., & Zeiger, E. (2006). Plant Physiology 4th Edition. Sunderland, MA, 764 p.
31. Tiwari, H., Agarwal, R., & Bhatt, P. (1998). Photosynthesis, stomata resistance and related characteristics as influenced by potassium under normal water supply and water stress condition in rice. *Indian Plant Physiology*, *3*, 314-316.
32. Wang, F., Li, Y., Pang, Y., Hu, J., Kang, X., & Qian, C. (2025). Thidiazuron enhances strawberry shoot multiplication by regulating hormone signal transduction pathways. *International Journal of Molecular Sciences*, *26*(9), 4060. https://doi.org/10.3390/ijms26094060
33. 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
34. Vinaya Rai, R. S., & Parthiban, K. T. (1995). Studies on the drought tolerance of *Eucalyptus* at seedling stage. *Journal of Tropical Forest Science*, *8*(2), 155 – 160. https://www.jstor.org/stable/43582472
35. Yang, G., Zhao, S., Gong, J., Huang, M., Yu, W., Zhang, K., & Hu, D. (2019). Dissipation and the effects of thidiazuron on antioxidant enzyme activity and malondialdehyde content in strawberry. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *99*(9), 4331-4337.https://doi.org/10.1002/jsfa.9666
36. Yasemi, A., Rezaei Nejad, A., Mousavi-Fard, S., & Beiranvand, F. (2024). Effect of pinching and thidiazuron on morphophysiological and biochemical properties of *pelargonium graveolens* under water deficit stress. *Iranian Journal of Horticultural Science*, *55*(2), 215-240. (In Persian). https://doi.org/10.22059/ijhs.2023.363042.2117
37. Zomorrodi, N., Rezaei Nejad, A., Mousavi-Fard, S., Feizi, H., Tsaniklidis, G., & Fanourakis, D. (2022). Potency of titanium dioxide nanoparticles, sodium hydrogen sulfide and salicylic acid in ameliorating the depressive effects of water deficit on periwinkle ornamental quality. *Horticulturae*, *8*(8), 675. https://doi.org/10.3390/horticulturae8080675

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

Research Article
Vol. 40, No. 3, Fall 2026, p. 523-536

The Effect of Micronutrient Elements and NPK-Containing Fertilizers on Some Physiological Traits, Quality, and Fruit Yield of Tomato (*Solanum lycopersicum*) under Salinity Stress

A. Tobeh[1*], A. Tobeh[1]

1- Department of Genetics and Plant Breeding, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
(*- Corresponding author's Email: Aydintobeh11@gmail.com)

Received: 18 September 2025
Revised: 07 December 2025
Accepted: 10 December 2025
Available Online: 10 December 2025

How to cite this article:
Tobeh, A., & Tobeh, A. (2026). The effect of micronutrient elements and NPK-containing fertilizers on some physiological traits, quality, and fruit yield of tomato (*Solanum lycopersicum*) under salinity stress. *Journal of Horticultural Science*, *40*(3), 523-536. (In Persian). https://doi.org/10.22067/jhs.2025.95481.1463

Introduction

Tomato (*Solanum lycopersicum*) is one of the most widely grown vegetable crops in the world and is of high nutritional and economic importance. However, tomato production is severely constrained by abiotic stresses, particularly salinity, which reduces water uptake, disrupts ionic balance, damages chlorophyll, and induces oxidative stress. Nutrient management has emerged as a promising approach. Nitrogen, phosphorus, and potassium are fundamental for growth and osmotic adjustment, while micronutrients such as iron, zinc, manganese, and boron act as cofactors for enzymes, participate in antioxidant defense, and contribute to reproductive success. This research aimed to investigate the effects of NPK and micronutrient fertilization, both individually and in combination, on tomato yield, quality, and physiological parameters under varying salinity levels, with the ultimate goal of providing sustainable solutions for tomato production in salt-affected areas.

Materials and Methods

The experiment was carried out in 2024 at the greenhouse of Mohaghegh Ardabili University, Iran. The experimental design was factorial, based on a randomized complete block with three replications. Treatments included four salinity levels (0, 2, 4, and 8 $dS.m^{-1}$) imposed by adding NaCl to irrigation water, and four fertilizer treatments: control (no fertilizer), NPK (200 kg N, 150 kg P, and 150 kg $K.ha^{-1}$), micronutrients (Zn, Fe, Mn, and B applied as foliar spray), and combined NPK + micronutrients (half NPK dose plus foliar micronutrients). NPK was applied partly as basal and partly as top dressing, while micronutrients were sprayed twice during vegetative growth and once after fruit setting. The measured traits included yield components (fruit number, average fruit weight, total yield per plant), physiological parameters (chlorophyll index by SPAD, proline content, electrolyte leakage), and biochemical traits (fruit lycopene and the activity of antioxidant enzymes catalase and peroxidase). Data were analyzed by ANOVA using SAS and SPSS, and mean comparisons were conducted with Duncan's multiple range test at the 5% level.

Results and Discussion

Salinity stress markedly reduced tomato performance. Yield per plant declined from 3.5 kg in the control to

Authors retain the copyright. This is an open access article distributed under Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0).
https://doi.org/10.22067/jhs.2025.95481.1463

1.6 kg under 8 $dS.m^{-1}$, representing a 54% reduction. Similarly, fruit number decreased from 28.5 to 16.8 and average fruit weight from 125.3 g to 94.8 g. These reductions were accompanied by decreases in chlorophyll index and lycopene content, confirming the negative impact of salinity on both growth and quality. Proline content and electrolyte leakage, indicators of stress, increased significantly with higher salinity. Fertilizer treatments substantially alleviated these effects. The combined NPK + micronutrient treatment consistently produced the best results. Under this treatment, yield reached 3.25 kg per plant, almost restoring yield levels under non-saline conditions. Lycopene content, which dropped to 7.6 $mg.kg^{-1}$ in the unfertilized control at 8 $dS.m^{-1}$, increased to 15.2 $mg.kg^{-1}$ with combined fertilization under non-saline conditions. Similarly, chlorophyll index (SPAD) was maintained at 39.5 in the combined treatment compared with 28.3 in stressed, unfertilized plants. Physiological responses also confirmed the benefits of fertilization. Proline accumulation, which reached 8.9 $\mu mol.g^{-1}$ fresh weight in stressed unfertilized plants, was significantly reduced in fertilized ones, reflecting less need for osmotic adjustment. Electrolyte leakage was minimized under combined fertilization, suggesting better membrane stability. Antioxidant defense was strongly enhanced: catalase activity reached 30.5 $units.mg^{-1}$ protein in plants treated with NPK + micronutrients, compared with 15.2 in the control. Peroxidase activity increased to 9 $units.mg^{-1}$ protein compared with only 6.5 in the control. These results confirm that micronutrients such as Fe, Mn, and Zn act as cofactors, improving enzyme activity and enabling plants to neutralize reactive oxygen species more efficiently. Overall, the findings show that while salinity causes severe reductions in yield and fruit quality, integrated nutrient management substantially mitigates these negative effects. The superiority of the combined treatment compared to either NPK or micronutrients alone highlights the importance of balanced nutrition. It also shows that micronutrients can reduce the reliance on high chemical fertilizer inputs, thus aligning with sustainable agriculture practices. These results are consistent with previous reports on the role of balanced fertilization in enhancing salt tolerance by improving chlorophyll biosynthesis, antioxidant defense, and osmotic regulation.

Conclusion

The findings confirm that the combined application of NPK and micronutrients effectively mitigates the adverse effects of salinity on tomato growth and yield by improving chlorophyll biosynthesis, lycopene accumulation, and antioxidant enzyme activity while reducing stress indicators such as proline and electrolyte leakage. This integrated fertilization strategy enhances yield stability, fruit quality, and plant resilience, offering a sustainable solution for tomato production in saline environments. Furthermore, it reduces dependence on high chemical fertilizer inputs, supporting environmentally friendly practices and long-term agricultural sustainability.

Keywords: Catalase, Chlorophyll index, Lycopene, Peroxidase, Proline

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

مقاله پژوهشی

جلد ۴۰، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۵، ص. ۵۳۶-۵۲۳

اثر عناصر ریزمغذی و کودهای حاوی NPK روی برخی صفات فیزیولوژیکی، کیفیت و عملکرد میوه گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum*) تحت تنش شوری

آیدین توبه[۱*] - احمد توبه[۱]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۶/۲۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۹/۱۹

چکیده

تنش شوری یکی از موانع اصلی تولید گوجه‌فرنگی است. این پژوهش با هدف ارزیابی تأثیر تغذیه تلفیقی با کودهای NPK و ریزمغذی‌ها بر بهبود شاخص‌های فیزیولوژیکی، عملکرد و کیفیت میوه گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum*) تحت تنش شوری، در سال ۱۴۰۲ در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه محقق اردبیلی انجام شد. این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا گردید و شامل چهار سطح شوری (شاهد، دو، چهار و هشت دسی‌زیمنس بر متر) و چهار تیمار کودی (شاهد، NPK، ریزمغذی و ترکیب NPK + ریزمغذی) بود. نتایج نشان داد که افزایش شوری موجب کاهش معنی‌دار تعداد میوه در بوته، وزن متوسط میوه، شاخص سبزینگی، محتوای لیکوپن و عملکرد گردید، به‌طوری که عملکرد میوه در هر بوته در تیمار هشت دسی‌زیمنس بر متر شوری نسبت به شاهد ۵۴ درصد کاهش یافت. در مقابل، کاربرد تیمارهای کودی و به‌ویژه ترکیب NPK+ ریزمغذی، اثرات منفی شوری را تا حد زیادی جبران کرد و موجب افزایش چشمگیر صفات مورد بررسی گردید؛ به‌گونه‌ای که بیشترین تعداد میوه (۲۶/۸ عدد)، میانگین وزن میوه (۱۲۳/۵ گرم) و عملکرد بوته (۳/۲۵ کیلوگرم) در این تیمار به دست آمد. همچنین این تیمار بالاترین شاخص سبزینگی (۳۹/۵) و محتوای لیکوپن (۱۵/۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم) را ایجاد کرد. از نظر شاخص‌های فیزیولوژیکی نیز استفاده هم‌زمان NPK و ریزمغذی‌ها موجب کاهش پرولین و نشت الکترولیت و در عین حال افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (۳۰/۵ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) و پراکسیداز (نُه واحد بر میلی‌گرم پروتئین) شد که نشان‌دهنده تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه و افزایش مقاومت به شوری است. بنابراین، یافته‌ها بیانگر آن است که تغذیه متعادل با کودهای ماکرو و ریزمغذی، یک راهکار مدیریتی پایدار برای افزایش مقاومت و بهبود عملکرد گوجه‌فرنگی در خاک‌های شور محسوب می‌شود. این رویکرد می‌تواند ضمن کاهش وابستگی به کودهای شیمیایی، به توسعه کشاورزی پایدار کمک کند.

واژه‌های کلیدی: پراکسیداز، پرولین، شاخص سبزینگی، کاتالاز، لیکوپن

مقدمه

گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum*) یکی از مهم‌ترین محصولات کشاورزی در جهان است که به‌دلیل ارزش غذایی بالا، غنی بودن از ویتامین‌ها مانند ویتامین C و A، آنتی‌اکسیدان‌ها مانند لیکوپن و ترکیبات فنولی، نقش مهمی در تغذیه انسان و صنایع غذایی ایفا می‌کند (FAO, 2021). سطح زیرکشت گوجه‌فرنگی در ایران در سال‌های اخیر به‌طور متوسط حدود ۸۰ هزار تا ۱۶۰ هزار هکتار بوده است (Mellat Broker, 2024). این سطح زیرکشت بالا نشان‌دهنده اهمیت گوجه‌فرنگی در سبد محصولات کشاورزی ایران است. بااین‌حال، تولید این محصول با چالش‌های متعددی روبه‌رو است که یکی از مهم‌ترین آن‌ها تنش شوری است. شوری خاک و آب به‌عنوان یکی از عوامل محدودکننده رشد گیاهان، تأثیرات منفی قابل توجهی بر عملکرد و کیفیت میوه گوجه‌فرنگی دارد. افزایش شوری در خاک‌های کشاورزی به‌دلیل استفاده بیش از حد از آب‌های شور، آبیاری نامناسب و تغییرات اقلیمی، به یک مشکل جهانی تبدیل شده است (Panahandeh et al., 2024). تنش شوری با ایجاد اختلال در تعادل یونی، سمیت ناشی از تجمع یون‌های سدیم و کلر و کاهش پتانسیل آب خاک باعث ایجاد تنش اکسیداتیو در گیاهان می‌شود (Mirabi et al., 2024). این شرایط منجر به کاهش فتوسنتز، اختلال در متابولیسم گیاه و در نهایت کاهش عملکرد و کیفیت میوه

۱- گروه ژنتیک و تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

(*- نویسنده مسئول: (Email: Aydintobeh11@gmail.com

https://doi.org/10.22067/jhs.2025.95481.1463

می‌شود (Latifikhah et al., 2019). در چنین شرایطی، استفاده از کودهای شیمیایی و عناصر ریزمغذی می‌تواند به‌عنوان یک راهکار مؤثر برای کاهش اثرات منفی شوری و بهبود رشد گیاهان مورد توجه قرار گیرد. نیتروژن به‌عنوان یک عنصر ضروری برای سنتز پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و کلروفیل، نقش مهمی در افزایش رشد رویشی و زایشی گیاهان دارد. بااین‌حال، مصرف بیش از حد نیتروژن می‌تواند حساسیت گیاه به تنش شوری را افزایش دهد (Ashraf et al., 2018). فسفر نیز با نقش خود در انتقال انرژی و سنتز ATP، به بهبود رشد ریشه و جذب بهتر آب و مواد مغذی در شرایط شوری کمک می‌کند (Liu et al., 2024). پتاسیم به‌عنوان یک عنصر کلیدی در تنظیم فشار اسمزی، فعال‌سازی آنزیم‌ها و بهبود مقاومت گیاه به تنش‌های محیطی می‌تواند اثرات منفی شوری را کاهش دهد (Minazadeh et al., 2018). مطالعه‌ای نشان داد که افزایش پتاسیم در محلول غذایی، آسیب‌های ناشی از آبیاری با آب شور بر رشد و عملکرد گوجه‌فرنگی گلخانه‌ای را به‌طور قابل توجهی کاهش می‌دهد (El-Mogy et al., 2018).

عناصر ریزمغذی مانند آهن، روی، منگنز و بور نیز در شرایط تنش شوری اهمیت ویژه‌ای دارند. آهن به‌عنوان یک کوفاکتور در بسیاری از آنزیم‌های دخیل در فرآیندهای اکسیداسیون و احیا، نقش مهمی در کاهش تنش اکسیداتیو ناشی از شوری ایفا می‌کند (Kaviani & Negahdar, 2021). روی نیز با نقش خود در سنتز پروتئین‌ها و تنظیم فعالیت آنزیم‌ها، می‌تواند به بهبود مقاومت گیاه به تنش شوری کمک کند (Weisany et al., 2014). منگنز یکی از عناصر ریزمغذی ضروری برای گیاهان محسوب می‌شود که در فرآیندهای متابولیکی مختلفی از جمله فتوسنتز، تنفس و سنتز پروتئین‌ها نقش دارد. منگنز به‌عنوان یک کوفاکتور در بسیاری از آنزیم‌های کلیدی مانند سوپراکسید دیسموتاز عمل می‌کند که در کاهش تنش اکسیداتیو ناشی از تنش شوری مؤثر است (Gul et al., 2019). بور نیز یکی از عناصر ریزمغذی ضروری برای رشد و توسعه گیاهان است که نقش مهمی در فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهان ایفا می‌کند. بور به‌عنوان یک عنصر ضروری برای تشکیل دیواره سلولی، تقسیم سلولی، متابولیسم کربوهیدرات‌ها، انتقال قندها و سنتز پروتئین‌ها شناخته شده است (Marschner, 2012). این عنصر همچنین در حفظ یکپارچگی غشای سلولی و تنظیم فعالیت آنزیم‌ها نقش دارد. کمبود بور می‌تواند منجر به اختلال در رشد ریشه، کاهش رشد رویشی و زایشی، و در نهایت کاهش عملکرد و کیفیت محصولات کشاورزی شود (Shireen et al., 2018). در تحقیقی مشخص شد که پاشش نانوذرات مس موجب افزایش رشد و شاخص‌های فیزیولوژیک گوجه‌فرنگی در شرایط شوری می‌شود (Perez-Labrada et al., 2019). نتایج آزمایشی نشان داد که محلول‌پاشی روی به‌شکل نانوذرات تا حدودی آسیب‌های ناشی از شوری را کاهش می‌دهد (Rasouli et al., 2019).

با وجود آنکه پژوهش‌های متعددی به بررسی تأثیر جداگانه کودهای ماکرو و میکرو بر کاهش اثرات شوری پرداخته‌اند، امّا کمتر تحقیقی به ارزیابی اثر تلفیقی این عناصر با هدف بهینه‌سازی تغذیه و کاهش وابستگی به کودهای شیمیایی پرداخته است. شکاف اصلی در این زمینه، عدم وجود یک راهکار مدیریتی یکپارچه است که بتواند هم‌زمان مقاومت به شوری را افزایش داده و در راستای کشاورزی پایدار، مصرف کودهای نیتروژنه و فسفاته را کاهش دهد. بنابراین، این پژوهش با هدف اصلی بررسی تأثیر کاربرد جداگانه و تلفیقی عناصر ریزمغذی و کودهای NPK بر شاخص‌های فیزیولوژیکی، کیفیت و عملکرد میوه گوجه‌فرنگی تحت تنش شوری طراحی شد.

اهداف جزئی پژوهش نیز شامل موارد زیر است:

۱- ارزیابی کارآیی ترکیب کودی در تعدیل اثرات منفی شوری

۲- شناسایی بهترین تیمار برای بهبود عملکرد و محتوای لیکوپن میوه

۳- بررسی این موضوع که آیا تغذیه با ریزمغذی‌ها می‌تواند نیاز گیاه به کودهای شیمیایی NPK را کاهش دهد یا خیر.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در سال ۱۴۰۲ به‌منظور بررسی اثرات مواد ریزمغذی و کود NPK روی گوجه‌فرنگی تحت تنش شوری در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه محقق اردبیلی انجام شد. دمای روزانه گلخانه بین ۲۴ تا ۲۸ درجه سانتی‌گراد و دمای شبانه بین ۱۶ تا ۲۰ درجه سانتی‌گراد حفظ گردید. رطوبت نسبی در محدوده ۶۰ تا ۷۰ درصد تنظیم شد. طول دوره روشنایی حدود ۱۵ ساعت و دوره تاریکی نُه ساعت بود. بذرهای گوجه‌رنگی رقم 'سنت‌پیر' ابتدا به‌منظور پیشگیری از آلودگی‌های قارچی با محلول سدیم هیپوکلریت دو درصد به‌مدت دو دقیقه ضدعفونی و سپس با آب مقطر شسته شد. بذرها ابتدا در سینی نشاء ۱۰۴ حجره‌ای (هر حجره با حجم تقریبی ۴۰ سی‌سی) حاوی بستر پیت‌ماس و پرلیت (به نسبت ۲:۱) کشت شدند. پس از رسیدن گیاهچه‌ها به مرحله ۳-۴ برگی، به گلدان‌های پلاستیکی با حجم ۱۰ لیتر منتقل گردید. بستر گلدان‌ها از خاک زراعی (با بافت لوم رسی)، پرلیت و شن با نسبت (۱:۱:۱) تهیه گردید. زهکش مناسب در کف گلدان‌ها در نظر گرفته شد. برای کاهش خطر بیماری‌های خاک‌زاد، مخلوط خاک به‌مدت ۴۸ ساعت در دمای ۸۰ درجه سلسیوس بخاردهی (استریل حرارتی) شد. همچنین گلدان‌ها پیش از استفاده با محلول سدیم هیپوکلریت یک درصد شسته و ضدعفونی

شدند. این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار انجام گردید. عامل اول سطوح شوری (شاهد، دو، چهار و هشت دسی‌زیمنس بر متر) بود. عامل دوم کود دارای چهار سطح که عبارتند از شاهد، کود کامل NPK (۲۰۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن و ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار فسفر و پتاسیم)، کود ریزمغذی (عنصر روی با غلظت دو گرم در لیتر و عناصر آهن، منگنز و بور با غلظت یک گرم در لیتر) و استفاده هم‌زمان مواد ریزمغذی و کود NPK (عنصر روی با غلظت دو گرم در لیتر، عناصر آهن، منگنز و بور با غلظت یک گرم در لیتر، ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن و ۷۵ کیلوگرم در هکتار فسفر و پتاسیم) بود. به عبارتی به‌ازای هر گلدان در تیمار کود کامل ۷/۴ گرم نیتروژن خالص (۴۷/۷ گرم کلسیم نیترات) و ۵/۵۵ گرم فسفر خالص (۲۷/۸ گرم سوپرفسفات تریپل) و ۵/۵۵ گرم پتاسیم خالص (۱۲/۴ گرم پتاسیم سولفات) استفاده شد. همچنین در تیمار ترکیبی، نصف این مقادیر استفاده شد. NPK ۵۰ درصد به‌صورت کود پایه و ۵۰ درصد به‌صورت سرک در مرحله رشد رویشی مورد استفاده قرار گرفت. همچنین مواد ریزمغذی دو بار در مرحله رشد رویشی و یک بار در مرحله پس از تشکیل میوه گیاه محلول‌پاشی شد. برای تأمین آهن از کود آهن کلاته با عامل EDDHA با نام تجاری سکوسترین، برای تأمین روی از سولفات روی، برای تأمین منگنز از سولفات منگنز و برای تأمین بور از اسید بوریک استفاده گردید. تنش شوری از طریق افزودن نمک سدیم کلرید به آب آبیاری و رساندن هدایت الکتریکی به سطوح مورد نظر پس از استقرار کامل نشاها در چند مرحله (برای جلوگیری از شوک ناگهانی به گیاه) اعمال شد.

اندازه‌گیری صفات

برای اندازه‌گیری صفات عملکردی، از مرحله آغاز رسیدگی میوه‌ها تا پایان باردهی بوته هر سه روز یک بار برداشت میوه‌ها انجام شد. برای اندازه‌گیری شاخص سبزینگی (SPAD) از هر بوته سه برگ کاملاً سالم و باز انتخاب گردید. این شاخص بر روی هر برگ در سه نقطه (یک نقطه نزدیک رگ‌برگ میانی و دو نقطه در حاشیه برگ) اندازه‌گیری گردید و سپس میانگین این سه عدد به‌عنوان SPAD آن برگ ثبت شد. اندازه‌گیری‌ها در مرحله رشد رویشی فعال و در ساعات ۱۲-۱۰ روز با استفاده از دستگاه کلروفیل‌متر مدل SPAD-502 (Konica Minolta, Japan) انجام گردید. برای اندازه‌گیری محتوای پرولین در برگ‌های گوجه‌فرنگی، از روش بیتس و همکاران (Bates et al., 1973) استفاده شد. این اندازه‌گیری و آزمایش‌ها در آزمایشگاه دانشگاه محقق اردبیلی انجام گردید. ابتدا حدود نیم گرم از برگ‌های تازه گوجه‌فرنگی به قطعات کوچک خرد شده و در ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درصد به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق نگهداری گردید تا پرولین استخراج شود. سپس محلول به‌مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شد تا مواد جامد جدا شوند. برای این منظور از دستگاه سانتریفیوژ 5414R (Eppendorf, Germany) استفاده گردید. برای انجام واکنش رنگ‌سازی، دو میلی‌لیتر از محلول استخراج‌شده با دو میلی‌لیتر محلول نین‌هیدرین (تهیه‌شده از حل کردن یک گرم نین‌هیدرین در ۲۵ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال و ۱۵ میلی‌لیتر آب مقطر) و دو میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال خالص مخلوط گردید. مخلوط به‌مدت یک ساعت در حمام آب گرم (۱۰۰ درجه سانتی‌گراد) قرار داده شد. پس از سرد شدن، چهار میلی‌لیتر بنزن به مخلوط اضافه گردید و به‌آرامی تکان داده شد تا لایه بنزن جدا گردد. جذب لایه بنزن در طول موج ۵۲۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر Smartspec Plus (Bio-Rad,USA) اندازه‌گیری شد. غلظت پرولین با استفاده از منحنی استاندارد پرولین محاسبه گردید. محتوای پرولین براساس معادله ۱ محاسبه و بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر گزارش گردید.

(۱) وزن نمونه / حجم نهایی × غلظت پرولین = محتوای پرولین

برای سنجش نشت الکترولیت برگ‌ها از معادله ۲ استفاده گردید (Noormohammadi et al., 2021):

$$EL = (L1/L2) \times 100 \quad (۲)$$

که در آن، EL: نشت الکترولیت، L1: هدایت الکتریکی نمونه‌ها بعد از ۲۴ ساعت قرار گرفتن در آب مقطر و L2: هدایت الکتریکی نمونه‌ها در مرحله دوم بعد از قرار گرفتن به‌مدت ۱۷ دقیقه در اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد می‌باشد. اندازه‌گیری هدایت الکتریکی به‌وسیله هدایت‌سنج EC متر (inolab Cond 7310 WTW, Germany) انجام گرفت.

برای اندازه‌گیری میزان لیکوپن در میوه گوجه‌فرنگی، از روش طیف‌سنجی UV-Vis استفاده شد. ابتدا نمونه‌های گوجه‌فرنگی سالم و رسیده انتخاب گردید و به‌دقت شسته و خشک شدند. سپس بخشی از بافت میوه جدا شده و به‌صورت همگن خرد گردید. برای استخراج لیکوپن، چهار گرم از نمونه همگن‌شده وزن شد و به یک ظرف شیشه‌ای منتقل گردید. سپس به نمونه، ۲۰ میلی‌لیتر هگزان اضافه شده و به‌مدت ۱۰ دقیقه با همزن هم زده شد تا لیکوپن به‌طور کامل استخراج شود. پس از آن، این محلول به‌مدت ۱۰ دقیقه در سانتریفیوژ با سرعت ۴۰۰۰ دور بر دقیقه قرار گرفت تا فازهای جامد و مایع از هم جدا گردد. فاز شفاف بالایی که حاوی لیکوپن است، با استفاده از پیپت به کووت دستگاه طیف‌سنج منتقل شد. جذب نور این محلول در طول موج ۴۷۲ نانومتر اندازه‌گیری گردید (Kakubari et al., 2020).

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک محل انجام آزمایش در عمق صفر تا۳۰ سانتی‌متری
Table 1- Physicochemical properties of the soil used in the experiment at a depth of 0 to 30 cm

شن Sand (%)	رس Clay (%)	سیلت Silt (%)	اسیدیته خاک pH	نیتروژن کل Total nitrogen (%)	ماده آلی Organic matter (%)	فسفر قابل جذب Available phosphorus (ppm)	پتاسیم قابل جذب Available potassium (ppm)	بافت Texture
30	38	32	7.3	0.08	1.3	12	155	لومی رسی Clay loam

برای اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم کاتالاز، ابتدا یک گرم از نمونه بافت گوجه‌فرنگی در پنج میلی‌لیتر بافر فسفات سرد با اسیدیته ۷ و غلظت ۵۰ میلی‌مولار همگن شد. سپس محلول همگن‌شده به‌مدت ۱۵ دقیقه در سانتریفیوژ با سرعت ۱۰۰۰۰ دور بر دقیقه قرار گرفت تا مواد جامد جدا شوند. فاز مایع شفاف به‌عنوان منبع آنزیم کاتالاز استفاده گردید. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم، ۵۰ میکرولیتر از مایع شفاف به ۲/۹ میلی‌لیتر از محلول پراکسید هیدروژن (۱۰ میلی‌مولار در بافر فسفات) اضافه شد. کاهش جذب نور در طول موج ۲۴۰ نانومتر به‌مدت یک دقیقه با استفاده از دستگاه طیف‌سنج UV-Vis ثبت گردید. فعالیت کاتالاز براساس میزان کاهش جذب نور و با استفاده از ضریب خاموشی پراکسید هیدروژن (۰/۰۴۳ میلی‌مولار بر سانتی‌متر) محاسبه شد (Hadwan, 2018).

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز، ۵۰ میکرولیتر از فاز مایع شفاف به ۲/۹ میلی‌لیتر از مخلوط واکنش حاوی بافر فسفات، گایاکول (۲۰ میلی‌مولار) و پراکسید هیدروژن (۱۰ میلی‌مولار) اضافه شد. افزایش جذب نور در طول موج ۴۷۰ نانومتر به‌مدت یک دقیقه با استفاده از دستگاه طیف‌سنج UV-Vis ثبت می‌شود. فعالیت پراکسیداز براساس میزان افزایش جذب نور و با استفاده از ضریب خاموشی تتراگایاکول (۲۶/۶ میلی‌مولار بر سانتی‌متر) محاسبه گردید (Singh et al., 2017).

برای تجزیه واریانس داده‌ها از نرم‌افزارهای SAS نسخه ۹/۴ و SPSS نسخه ۲۴ استفاده شد. همچنین برای رسم نمودارها و ثبت اطلاعات از نرم‌افزارهای WORD و ECXEL استفاده گردید. مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون چنددامنه‌ای دانکن و در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

تعداد میوه در بوته

براساس تجزیه واریانس داده‌ها در جدول ۱ مشاهده شد که اثرات اصلی شوری و کود در سطح احتمال یک درصد بر تعداد میوه در بوته معنی‌دار بود. جدول مقایسه میانگین (جدول ۲) نشان می‌دهد که در بین تیمارهای کودی، بیشترین تعداد میوه مربوط به استفاده همزمان NPK و مواد ریزمغذی با میزان ۲۶/۸ عدد و کمترین میزان مربوط به تیمار کودی شاهد با میزان ۲۰/۲ عدد بود. همچنین در بین سطوح شوری، بیشترین (۲۸/۵) و کمترین (۱۶/۸) تعداد میوه به‌ترتیب مربوط به سطح شاهد و شوری هشت دسی‌زیمنس بر متر بود. اثر متقابل کود و سطوح شوری بر صفت تعداد میوه در بوته معنی‌دار نبود. همان‌طور که مشاهده شد، کاربرد توأم کودهای ماکرو و میکرو بیشترین تعداد میوه در بوته را به دنبال داشت. از دلایل مهم آن می‌توان به افزایش شاخص سبزینگی و بهبود فتوسنتز در این تیمار، کاهش نشت الکترولیت و پرولین که نشان‌دهنده کاهش تنش اکسیداتیو و حفظ سلامت سلولی است، و همچنین تقویت فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز و پراکسیداز) که از ریزش گل و میوه جلوگیری می‌کنند، اشاره کرد. به‌علاوه، نقش مستقیم عناصری مانند پتاسیم در تنظیم اسمز و عناصر ریزمغذی مانند روی و بور در بهبود کیفیت گرده و فرآیند لقاح، به‌طور مستقیم موجب افزایش تعداد میوه شد (Schmidt et al., 2016). عناصر ریزمغذی همچنین از ریزش گل و میوه جلوگیری می‌کنند (Nateghi et al., 2015). نیتروژن موجب افزایش تولید کلروفیل و فتوسنتز می‌شود که منجر به رشد بهتر گیاه و همچنین با رشد بیشتر گیاه موجب جذب آب بیشتر و مقاومت در برابر شوری و افزایش تعداد میوه‌ها می‌شود (Hawkesford et al., 2012). پتاسیم و فسفر نیز با افزایش رشد ریشه و برگ‌ها منجر به افزایش تعداد میوه می‌شوند (Moallaye Mazraei et al., 2024).

میانگین وزن میوه

طبق تجزیه واریانس داده‌ها در جدول ۱ مشاهده شد که اثرات اصلی شوری و کود در سطح احتمال یک درصد بر صفت میانگین وزن میوه معنی‌دار بود. براساس جدول مقایسه میانگین (جدول ۲)، در بین تیمارهای کودی بیشترین وزن میوه مربوط به استفاده همزمان NPK و مواد ریزمغذی با میزان ۱۲۳/۵ گرم و کم‌ترین میزان مربوط به تیمار کودی شاهد با میزان ۱۰۵/۴ گرم بود. همچنین در بین سطوح شوری، بیشترین (۱۲۵/۳ گرم) و کمترین (۹۴/۸ گرم) وزن

میوه به‌ترتیب مربوط به سطح شاهد و شوری هشت دسی‌زیمنس بر متر بود. اثر متقابل کود و سطوح شوری بر صفت میانگین وزن میوه معنی‌دار نبود. شوری با کاهش محتوای کلروفیل و بستن روزنه‌ها، میزان فتوسنتز خالص را کاهش می‌دهد و در نتیجه، مواد فتوسنتزی کمتری برای پُر شدن میوه‌ها و افزایش وزن آن‌ها در دسترس قرار می‌گیرد. بهبود معنی‌دار در وزن میوه تحت تأثیر کودهای ماکرو و میکرو را می‌توان با تقویت هماهنگ چندین سازوکار فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی توجیه نمود. افزایش شاخص سبزینگی برگ‌ها تحت این تیمار، حاکی از بهبود ساخت کلروفیل و کارآیی فتوسنتز است که منجر به تولید بیشتر مواد آلی (کربوهیدرات‌ها) می‌گردد، این مواد به‌عنوان اسکلت اصلی و منبع انرژی برای پُر شدن میوه و افزایش وزن آن ضروری هستند. کاهش معنادار نشت الکترولیت و پرولین نشان‌دهنده حفظ بهتر یکپارچگی غشاهای سلولی و کاهش تنش اکسیداتیو است که در شرایط شوری، از هدررفت مواد سلولی و انرژی جلوگیری کرده و منابع را به سمت رشد میوه هدایت می‌کند. افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز و پراکسیداز، با خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد، از آسیب به ماکرومولکول‌های مهم (مانند پروتئین‌ها و لیپیدها) در طول دوره رشد میوه جلوگیری نموده و شرایط بهینه متابولیکی را برای انباشت مواد در میوه فراهم می‌آورد. همچنین نقش مستقیم عناصر غذایی به‌ویژه پتاسیم در تنظیم فشار تورگر و انتقال فعال قندها و سایر مواد محلول به درون میوه، و همچنین نقش فسفر در تأمین انرژی برای فرآیندهای سنتزی، به‌طور مستقیم در افزایش وزن نهایی میوه مؤثر بودند (Ahmad et al., 2018). همچنین ریزمغذی‌هایی مانند بور در تشکیل دیواره سلولی و انتقال قندها، و منگنز به‌عنوان کوفاکتور در آنزیم‌های کلیدی چرخه کالوین، بر کارآیی فتوسنتز و انتقال مواد به میوه تأثیر گذاشتند (Shireen et al., 2018; Schmidt et al., 2016). همچنین فسفر در تولید ATP نقش دارد که باعث بهبود متابولیسم گیاه در شرایط تنش شوری می‌شود (Plaxton & Tran, 2011).

عملکرد بوته

مطابق تجزیه واریانس داده‌ها در جدول ۱ مشاهده شد که اثرات اصلی شوری و کود در سطح احتمال یک درصد بر صفت عملکرد بوته معنی‌دار بود. طبق جدول مقایسه میانگین (جدول ۲)، در بین تیمارهای کودی، بیشترین عملکرد بوته مربوط به استفاده توأم NPK و مواد ریزمغذی با میزان ۳/۲۵ کیلوگرم و کم‌ترین میزان مربوط به تیمار کودی شاهد با میزان ۲/۳ کیلوگرم بود. در بین سطوح شوری نیز بیشترین (۳/۵ کیلوگرم) و کمترین (۱/۶ کیلوگرم) عملکرد بوته به‌ترتیب مربوط به سطح شاهد و شوری هشت دسی‌زیمنس بر متر بود. اثر متقابل کود و سطوح شوری بر میانگین عملکرد بوته معنی‌دار نبود. کودهای ماکرو و میکرو با افزایش تعداد میوه در بوته و همچنین میانگین وزن میوه موجب افزایش عملکرد بوته شدند. نیتروژن موجب بهبود رشد رویشی و افزایش سطح برگ می‌شود که منجر به افزایش فتوسنتز و افزایش عملکرد می‌شود (Nouri et al., 2015). پتاسیم با حفظ تعادل آبی گیاه موجب افزایش مقاومت آن در برابر تنش‌ها می‌شود که موجب بهبود عملکرد خواهد شد (Wang et al., 2013). عنصر روی با افزایش تولید هورمون‌های رشد مانند اکسین به توسعه ریشه و افزایش عملکرد کمک می‌کند (Mohammad Nejad Ganji et al., 2024). در مجموع مشاهده شد که استفاده توأم از مواد ریزمغذی و کود کامل NPK بهترین نتایج را در پی داشت. با توجه به این مشاهدات می‌توان نتیجه گرفت که کودهای ریزمغذی می‌توانند قسمتی از نیازهای گیاه را برطرف کنند و نیاز به کودهای شیمیایی را کاهش دهند. در واقع می‌توان با کاربرد مواد ریزمغذی، استفاده از کودهای شیمیایی که برای محیط زیست و طبیعت مضر و در طبیعت ماندگار هستند را کاهش داد. کاربرد ریزمغذی آهن موجب افزایش میزان عناصر غذایی در برگ و ریشه گیاه شده و از این طریق موجب افزایش عملکرد می‌گردد (Jafari et al., 2024).

فعالیت آنزیم پراکسیداز

مطابق تجزیه واریانس داده‌ها در جدول ۱ مشاهده شد که اثرات اصلی شوری و کود در سطح احتمال یک درصد بر فعالیت پراکسیداز معنی‌دار بود. طبق جدول مقایسه میانگین (جدول ۲)، در بین تیمارهای کودی، بیشترین فعالیت پراکسیداز مربوط به استفاده توأم NPK و مواد ریزمغذی با میزان نُه واحد بر میلی‌گرم پروتئین و کم‌ترین میزان مربوط به تیمار کودی شاهد با میزان ۶/۵ واحد بر میلی‌گرم پروتئین بود. در بین سطوح شوری نیز بیشترین (۹/۸ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) و کمترین (۵/۷ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) فعالیت پراکسیداز به‌ترتیب مربوط به سطح چهار دسی‌زیمنس بر متر و سطح شاهد کودی بود. اثر متقابل کود و سطوح شوری بر صفت فعالیت پراکسیداز معنی‌دار نبود. استفاده از کود NPK می‌تواند به بهبود رشد گیاه و افزایش مقاومت به شوری کمک کند (Hafez et al., 2019). عناصر ریزمغذی از جمله روی در سنتز پروتئین‌ها و تنظیم فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نقش دارد و می‌تواند مقاومت گیاهان به شوری را افزایش دهد (Weisany et al., 2014). پراکسیدازها گروه دیگری از آنزیم‌های مهم برای حذف H_2O_2 هستند و در فرآیندهای مختلفی از جمله لیگنین‌سازی و پاسخ به تنش نقش دارند (Shigeto & Tsutsumi, 2016). الگوی پاسخ پراکسیداز در این تحقیق نشان می‌دهد که این آنزیم نیز در سطوح متوسط

شوری برای خنثی کردن ROS فعال می‌شود. کاهش فعالیت آن در شدیدترین سطح شوری می‌تواند مشابه با سازوکار کاتالاز باشد. تحقیقات جدید، بر نقش محوری پراکسیدازها در تحمل به تنش تأکید دارند. بهبود فعالیت پراکسیداز توسط کودها، به‌ویژه NPK + ریزمغذی، به‌دلیل تأمین عناصری مانند مس و آهن است که به‌عنوان کوفاکتور برای بسیاری از ایزوآنزیم‌های پراکسیداز عمل می‌کنند (Hänsch & Mendel, 2009). این افزایش فعالیت آنزیمی به گیاه کمک می‌کند تا بهتر با تنش اکسیداتیو کنار بیاید.

پرولین

طبق جدول تجزیه واریانس (جدول ۱)، اثر اصلی و همچنین اثر متقابل آن‌ها در سطح احتمال یک درصد بر پرولین برگ معنی‌دار بود. براساس مقایسه میانگین اثر متقابل (جدول ۳) مشخص شد که بیشترین پرولین مربوط به اثر متقابل سطح شوری هشت دسی‌زیمنس بر متر و سطح کودی شاهد با میزان ۸/۹ میکرومول بر گرم و کم‌ترین پرولین مربوط به اثر متقابل سطح شوری شاهد و استفاده توأم NPK و مواد ریزمغذی با میزان ۴/۵ میکرومول بر گرم بود. با افزایش سطوح شوری و در سطح شاهد کودی، میزان پرولین افزایش می‌یابد. زیرا در این حالت‌ها، تنش افزایش پیدا کرده و میزان پرولین با افزایش سطح تنش افزایش پیدا می‌کند. گیاهانی که تحت تنش قرار گرفته و تغذیه مناسبی دریافت نکرده‌اند، تحت تنش شدیدتری هستند. در نتیجه، برای مقابله با این تنش، سازوکار دفاعی خود (تولید پرولین) را تا حداکثر ممکن فعال می‌کنند. شوری باعث افزایش تجمع پرولین در گیاهان می‌شود، زیرا پرولین به‌عنوان یک اسمولیت محافظتی عمل می‌کند و به گیاه کمک می‌کند تا با شرایط تنش شوری مقابله کند. وقتی گیاه مقدار کافی از مواد مغذی دریافت کند، تنش تغذیه‌ای کاهش یافته و دیگر نیازی به تولید پرولین به‌عنوان یک سازوکار دفاعی نیست (Seifi et al., 2023). نتایج همین پژوهش نشان داد که تیمار ترکیبی کود کامل NPK و ریزمغذی‌ها، حتی در شدیدترین سطح شوری (هشت دسی‌زیمنس بر متر) توانست نشت الکترولیت را به‌طور معناداری بهتر از سایر تیمارها مهار کند، که همین امر منجر به نیاز کمتر به تولید پرولین و برتری گیاه در برابر تنش شوری شده است. این برتری را می‌توان حاصل هم‌افزایی چندین سازوکار کلیدی دانست. نخست، پتاسیم و کلسیم موجود در تیمار کودی، با رقابت بر سر جایگاه‌های جذبی و تشکیل پیوندهای مستحکم، یکپارچگی فیزیکی غشای سلولی را در برابر هجوم یون‌های سدیم حفظ کردند (Isayenkov & Maathuis, 2019). ریزمغذی‌هایی مانند آهن، منگنز و روی به‌عنوان کوفاکتورهای اختصاصی، زنجیره کامل آنزیم‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی (سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز) را به‌طور هماهنگ فعال نمودند و از آسیب اکسیداتیو به لیپیدهای غشا جلوگیری کردند. تأمین هم‌زمان پتاسیم به‌عنوان یک اسمولیت کم‌هزینه، نیاز گیاه به سنتز پرولین پرهزینه را کاهش داد و انرژی و مواد ذخیره‌شده را به سمت فرآیندهای ترمیم و نگهداری غشا هدایت کرد (Ziachehre et al., 2023). همچنین نیتروژن و روی، مواد اولیه و تنظیم‌کننده سنتز پروتئین‌های جدید مورد نیاز برای جایگزینی پروتئین‌های آسیب‌دیده غشا را فراهم آوردند. بنابراین، این تیمار ترکیبی با ایجاد یک سیستم دفاعی یکپارچه متشکل از استحکام‌بخشی فیزیکی، حفاظت آنتی‌اکسیدانی کامل، صرفه‌جویی در انرژی و توان ترمیمی موفق شد که در شرایط تنش شدید، سلامت غشای سلولی را به‌طور مؤثری حفظ نماید. در چنین شرایطی، گیاه به‌جای صرف انرژی برای تولید پرولین، از این انرژی برای رشد و توسعه خود استفاده کرده و عملکرد گیاه افزایش پیدا می‌کند (Ahanger & Agarwal, 2017).

لیکوپن میوه

با توجه به جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) مشاهده شد که اثر اصلی کود و سطوح شوری در سطح احتمال یک درصد و اثر متقابل آن‌ها در سطح احتمال پنج درصد بر لیکوپن میوه معنی‌دار بودند. طبق جدول مقایسه میانگین اثر متقابل کود و سطوح شوری (جدول ۳)، بیشترین لیکوپن میوه مربوط به اثر متقابل سطح شاهد شوری با استفاده توأم کود ریزمغذی و NPK با میزان ۱۵/۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم و کم‌ترین میزان مربوط به اثر متقابل سطح هشت دسی‌زیمنس بر متر شوری و سطح شاهد کود با میزان ۷/۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود. در این پژوهش مشاهده شد که مصرف توأم کودهای ریزمغذی و کود NPK هم باعث افزایش لیکوپن میوه می‌شود و هم نیاز به استفاده از کودهای شیمیایی NPK را کاهش می‌دهد. لیکوپن یک کاروتنوئید مهم است که به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی در گوجه‌فرنگی عمل می‌کند و نقش مهمی در بهبود کیفیت تغذیه‌ای و سلامت انسان دارد. آهن به‌عنوان یک کوفاکتور در بسیاری از آنزیم‌های دخیل در سنتز کاروتنوئیدها از جمله لیکوپن عمل می‌کند. کمبود آهن می‌تواند منجر به کاهش سنتز لیکوپن و سایر کاروتنوئیدها شود (Rahman et al., 2023). روی در سنتز پروتئین‌ها و تنظیم فعالیت آنزیم‌های مرتبط با سنتز کاروتنوئیدها نقش دارد. کمبود روی می‌تواند منجر به کاهش تولید لیکوپن شود، درحالی‌که استفاده از کودهای حاوی روی می‌تواند غلظت لیکوپن را در میوه‌ها افزایش دهد (Mallick et al., 2021). شوری باعث افزایش تولید رادیکال‌های آزاد در گیاهان می‌شود که می‌تواند به ساختارهای سلولی آسیب برساند و سنتز لیکوپن را کاهش دهد (Gul et al., 2019). عناصر

غذایی مانند پتاسیم در فعال کردن آنزیم‌های کلیدی مسیر بیوسنتز کاروتنوئیدها نقش دارند. همچنین ازآنجایی‌که لیکوپن خود یک آنتی‌اکسیدان است، با بهبود سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی توسط کودها، احتمال تجزیه لیکوپن نیز کاهش می‌یابد. بنابراین، تغذیه مناسب نه‌تنها بیوسنتز لیکوپن را تحریک می‌کند، بلکه از تخریب آن نیز جلوگیری می‌نماید (Juarez et al., 2017).

شاخص سبزینگی (SPAD)

طبق جدول تجزیه واریانس (جدول ۱)، اثر اصلی کود و سطوح شوری و همچنین اثر متقابل آن‌ها در سطح احتمال یک درصد بر میزان کلروفیل معنی‌دار بود. براساس جدول مقایسه میانگین اثر متقابل کود و سطوح شوری (جدول ۳)، بیشترین کلروفیل مربوط به اثر متقابل سطح شاهد شوری با استفاده توأم کود ریزمغذی و NPK (۳۹/۵) و کم‌ترین میزان مربوط به اثر متقابل سطح هشت دسی‌زیمنس بر متر شوری و سطح شاهد کود (۲۸/۳) بود. مواد ریزمغذی مانند آهن نقش کلیدی در سنتز کلروفیل دارند. کمبود آهن منجر به کاهش کلروفیل و بروز زردی برگ‌ها می‌شود (Izadi & Rezaei Nejad, 2020). بور در انتقال قندها و تشکیل دیواره سلولی نقش دارد و کمبود آن می‌تواند به کاهش تولید کلروفیل و اختلال رشد گیاه منجر شود (Ahmed et al., 2014). عناصر غذایی مانند نیتروژن، جزء اصلی کلروفیل، منیزیم هسته مرکزی مولکول کلروفیل و ریزمغذی‌هایی مانند آهن و منگنز در سنتز کلروفیل نقش دارند (Marschner, 2012). در شرایط شوری که معمولاً موجب کلروز و زردی برگ می‌شود، این ترکیب هماهنگ از عناصر، یک شبکه ایمنی چندلایه ایجاد می‌کند، هم مواد خام (نیتروژن و منیزیم) را می‌رساند، هم ابزارهای ساخت (آنزیم‌های حاوی آهن و منگنز) را فعال نگه می‌دارد و هم از محصول نهایی (کلروفیل و کلروپلاست) در برابر تنش محافظت می‌کند. بنابراین، گیاه می‌تواند کارخانه فتوسنتزی خود را حتی تحت تنش شدید شوری فعال نگه دارد که این امر به‌طور مستقیم بر تولید ماده خشک، پُر شدن میوه و در نهایت افزایش عملکرد تأثیر می‌گذارد.

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر عناصر ریزمغذی و کودهای حاوی NPK روی برخی صفات فیزیولوژیکی، کیفیت و عملکرد میوه گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum*) رقم 'سنت‌پیر' تحت تنش شوری

Table 2- ANOVA for the effects of micronutrients and NPK fertilizers on some physiological traits, fruit quality, and yield of tomato (*Solanum lycopersicum*) cv. 'Saint-Pierre' under salinity stress.

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean of squares								
		نشت الکترولیت Electrolyte leakage	پراکسیداز POX	کاتالاز CAT	پرولین Proline	SPAD	لیکوپن میوه Fruit lycopene	عملکرد بوته Plant yield	وزن میوه Fruit weight	تعداد میوه در بوته Number of fruits per plant
تکرار Replication	2	0.39^{ns}	0.16^{ns}	3.212^{ns}	0.4^{ns}	0.66^{ns}	0.23^{ns}	0.22^{ns}	4.16^{ns}	6.225^{ns}
تنش شوری Salinity stress (a)	3	106.8**	6.8**	150.1**	15.1**	40.15**	8.44**	5.1**	106.81**	81.773**
کود Fertilizer (b)	3	50.251**	5.2**	11.25**	10.25**	28.58**	6.25**	2.92**	50.25**	32.92**
a × b	9	6.69**	0.35^{ns}	10.023**	0.69**	1.13**	0.46*	0.35^{ns}	6.69^{ns}	5.02^{ns}
خطای آزمایش Error	30	0.28	0.24	1.18	0.27	0.4	0.22	0.2	4.08	4.15
ضریب تغییرات C.V. (%)	-	6.2	5.6	8.5	9.2	7.02	6.61	6.77	7.32	8.87

ns: غیرمعنی‌دار، * و **: به‌ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد

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

نشت الکترولیت

براساس جدول تجزیه واریانس (جدول ۱)، اثر اصلی کود و سطوح شوری و همچنین اثر متقابل آن‌ها در سطح احتمال یک درصد بر نشت الکترولیت معنی‌دار بود. طبق جدول مقایسه میانگین اثر متقابل کود و سطوح شوری (جدول ۳)، کم‌ترین نشت الکترولیت مربوط به اثر متقابل سطح شاهد شوری با استفاده توأم کود ریزمغذی و NPK با میزان ۱۱/۵ درصد و بیشترین میزان مربوط به اثر متقابل سطح هشت دسی‌زیمنس بر متر شوری و سطح شاهد کود با میزان ۲۶/۷ درصد بود. نشت الکترولیت[1] نشان‌دهنده آسیب به غشای سلولی گیاهان است و معمولاً به‌عنوان شاخصی برای ارزیابی سلامت سلول‌های گیاهی تحت تنش‌های محیطی مانند شوری استفاده می‌شود (Toupchi Khosrowshahi et al., 2019). در این پژوهش مشاهده شد که استفاده از کودهای ریزمغذی و NPK می‌تواند نشت الکترولیت را کاهش دهد و به حفظ یکپارچگی غشای سلولی کمک کند. شوری خاک و آب یکی از عوامل مهم تنش‌زا برای گیاهان است که می‌تواند منجر به افزایش نشت الکترولیت شود. شوری باعث ایجاد تنش اکسیداتیو و آسیب به غشای سلولی می‌شود که می‌تواند نشت الکترولیت را افزایش دهد (Safdar et al., 2019). مواد ریزمغذی به‌عنوان کوفاکتور در بسیاری از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی عمل می‌کنند که به کاهش آسیب‌های اکسیداتیو به غشای سلولی کمک می‌کنند (Weisany et al., 2014).

فعالیت آنزیم کاتالاز

براساس جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) اثر اصلی کود و سطوح شوری و همچنین اثر متقابل آن‌ها در سطح احتمال یک درصد بر فعالیت آنزیم کاتالاز معنی‌دار بود. با توجه به جدول مقایسه میانگین اثر متقابل کود و سطوح شوری (جدول ۳)، بیشترین فعالیت کاتالاز مربوط به اثر متقابل سطح چهار دسی‌زیمنس بر متر شوری با استفاده توأم کود ریزمغذی و NPK با میزان ۳۰/۵ واحد بر میلی‌گرم پروتئین و کم‌ترین میزان مربوط به اثر متقابل سطح شاهد شوری و سطح شاهد کود با میزان ۱۵/۲ واحد بر میلی‌گرم پروتئین بود.

جدول ۳- اثر اصلی سطوح شوری و تیمارهای کودی روی برخی از صفات فیزیولوژیکی و عملکرد میوه گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum*) رقم 'سنت‌پیر'

Table 3- The effect of salinity levels and fertilizer treatments on some physiological traits and yield of tomato (*Solanum lycopersicum*) cv. 'Saint-Pierre

تیمارهای آزمایشی Treatments	پراکسیداز POX ($u.mg^{-1}$)	عملکرد بوته Plant yield (kg)	وزن میوه Fruit weight (g)	تعداد میوه در بوته Number of fruits per plant
شوری Salinity ($dS.m^{-1}$)				
شاهد Control	5.7 d*	3.5 a	125.3 a	28.5 a
2	8.2 b	2.85 b	115.7 b	24.3 b
4	9.8 a	2.2 c	105.2 c	20.1 c
8	6.9 c	1.6 d	94.8 d	16.8 d
کود Fertilizer				
شاهد Control	6.5 c	2.3 c	105.4 c	20.2 c
ریزمغذی Micronutrients	7.8 b	2.8 b	112.3 b	23.4 b
NPK	8.7 a	3.1 a	120.6 a	25.6 a
ریزمغذی + NPK Micronutrients + NPK	9 a	3.25 a	123.5 a	26.8 a

* در هر ستون هر بخش میانگین‌های با حروف مشترک، براساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

* In each column and section, means with common letters are not significantly different at the 5% of probability level based on Duncan's multiple range test.

1- Electrolyte leakage

جدول ۴- اثر متقابل سطوح شوری × تیمارهای کودی بر برخی صفات فیزیولوژیکی و کیفیت میوه گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum*) رقم 'سنت‌پیر'

Table 4- The interaction effect of salinity levels × fertilizer treatments on some physiological traits and fruit quality of tomato (*Solanum lycopersicum*) cv. 'Saint-Pierre

سطوح شوری Salinity ($dS.m^{-1}$)	تیمارهای کودی Fertilizer treatments	نشت الکترولیت Electrolyte leakage (%)	پرولین Proline ($\mu mol.g^{-1}$)	کاتالاز CAT ($u.mg^{-1}$)	SPAD	لیکوپن Lycopene ($mg.kg^{-1}$)
شاهد Control	شاهد Control	15.3 jkl*	5.3 jkl	15.2 m	35.2 cde	12.5 d
	ریزمغذی Micronutrients	14.1 kl	5.1 kl	16.5 lm	37.1 b	13.6 bc
	NPK	12.8 lm	4.8 lm	17.8 kl	38.7 a	14.8 ab
	ریزمغذی + NPK Micronutrients + NPK	11.5 m	4.5 m	19.4 ij	39.5 a	15.2 a
2	شاهد Control	18.2 ghi	6.2 h	20.8 ghi	32.5 hi	10.8 f
	ریزمغذی Micronutrients	17.5 hij	5.9 hi	22.1 efg	34.2 efg	11.5 ef
	NPK	16.7 ij	5.7 ij	23.4 e	35.8 bcd	12.3 de
	ریزمغذی + NPK Micronutrients + NPK	15.9 ijk	5.4 ijk	25.6 cd	36.4 bc	13.1 cd
4	شاهد Control	22.4 cde	7.5 de	25.2 d	30.1 k	9.2 hi
	ریزمغذی Micronutrients	21.3 def	7.1 ef	27.1 c	31.7 j	9.8 gh
	NPK	20.1 efg	6.8 fg	28.7 b	33.4 fgh	10.7 f
	ریزمغذی + NPK Micronutrients + NPK	19.8 fgh	6.3 gh	30.5 a	34.6 def	11.4 ef
8	شاهد Control	26.7 a	8.9 a	18.3 jk	28.3 l	7.6 j
	ریزمغذی Micronutrients	25.5 ab	8.5 ab	20.2 hi	29.8 kl	8.3 ij
	NPK	24.3 abc	8.1 bc	21.7 fgh	31.2 i	9.1 h
	ریزمغذی + NPK Micronutrients + NPK	23.1 bcd	7.7 cd	23.1 ef	32.7 ghi	10.2 g

* در هر ستون میانگین‌های با حروف مشترک، براساس آزمون چندامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

* In each column, means with common letters are not significantly different at the 5% of probability level based on Duncan's multiple range test.

آهن به‌عنوان یک کوفاکتور در بسیاری از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله کاتالاز عمل می‌کند. کمبود آهن می‌تواند منجر به کاهش فعالیت کاتالاز و افزایش تجمع پراکسید هیدروژن در سلول‌های گیاهی شود (Al-Temimi et al., 2020). پتاسیم به‌ویژه در تنظیم فشار اسمزی و کاهش تنش اکسیداتیو نقش دارد و می‌تواند فعالیت کاتالاز را افزایش دهد (Altaey & Majid , 2018). منگنز در فعال‌سازی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز نقش دارد. استفاده از کودهای حاوی منگنز می‌تواند فعالیت کاتالاز را افزایش دهد و به گیاهان کمک کند تا با تنش‌های اکسیداتیو مقابله کنند (Gul et al., 2019). در این پژوهش مشاهده شد که استفاده از مواد ریزمغذی و کودهای NPK می‌تواند اثر منفی تنش‌های شوری بر روی گیاه را کاهش دهد. افزایش اولیه فعالیت کاتالاز در سطوح متوسط شوری، پاسخ طبیعی گیاه برای مقابله با افزایش تولید H_2O_2 ناشی از شوری است. کاهش فعالیت آن در سطح شدید شوری ناشی از مهار سنتز پروتئین، آسیب مستقیم به ساختار آنزیم و از پا در آمدن سیستم دفاعی گیاه است. این الگوی افزایش و سپس کاهش، در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تحت تنش‌های شدید در مطالعات دیگر نیز گزارش شده است (Mansour & Hassan, 2022).

نتیجه‌گیری

کاربرد هم‌زمان عناصر پرمصرف و کم‌مصرف موجب تقویت و یکپارچه‌سازی دو عملکرد کلیدی گیاه در برابر شوری شد: پایداری غشای سلولی و کارآیی دستگاه فتوسنتزی. در گام نخست، تأمین هماهنگ پتاسیم، کلسیم و ریزمغذی‌ها، سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی گیاه را به‌طور کامل فعال نمود که نتیجه آن، کاهش آسیب اکسیداتیو به غشای سلولی بود. این امر منجر به کاهش نشت الکترولیت و کاهش نیاز به تجمع پرولین (به‌عنوان پاسخ پُرهزینه به تنش) گردید و انرژی و منابع ذخیره‌شده گیاه حفظ شد. در گام دوم، با تأمین نیتروژن، منیزیم و ریزمغذی‌های کوفاکتور (آهن، منگنز)، چرخه سنتز و حفاظت از کلروفیل به‌صورت کارآمدی تداوم یافت که در شاخص سبزینگی بالا متجلی گشت. تداوم فتوسنتز، مواد آلی لازم برای رشد و تقسیم سلولی را فراهم آورد. حاصل این دو فرآیند هم‌زمان (حفظ تمامیت سلولی و تداوم فتوسنتز) به‌صورت مستقیم در صفات عملکردی گیاه با افزایش تعداد میوه در بوته، افزایش وزن میوه (ناشی از ذخیره‌سازی بهتر مواد فتوسنتزی) و در نهایت افزایش کمّی و کیفی عملکرد (با افزایش محتوای لیکوپن و عملکرد کل بوته) ظهور کرد. بنابراین، بهبود در صفات عملکردی، در حقیقت خروجی نهایی یک فرآیند بهبودیافته در سطح سلولی و متابولیکی است که با تغذیه متعادل و هماهنگ امکان‌پذیر شده است. این رویکرد تغذیه‌ای متعادل می‌تواند ضمن کاهش مصرف کودهای شیمیایی، به‌عنوان یک راهبرد پایدار برای تولید پایدار گوجه‌فرنگی در مناطق شور توصیه شود. این یافته‌ها بیانگر آن است که استفاده از ریزمغذی‌ها نه‌تنها بخشی از نیاز گیاه به کودهای شیمیایی را برطرف می‌کند، بلکه می‌تواند مصرف این کودها را کاهش داده و در جهت کشاورزی پایدار و کاهش آسیب‌های زیست‌محیطی مؤثر باشد. پیشنهاد می‌شود که در مطالعات آینده، کاربرد این تیمار ترکیبی در شرایط واقعی مزرعه‌ای و بر بستر خاک‌های شور طبیعی مورد ارزیابی قرار گیرد.

References

1. Ahanger, M. A., & Agarwal, R. M. (2017). Potassium up-regulates antioxidant metabolism and alleviates growth inhibition under water and osmotic stress in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Protoplasma*, *254*(4), 1471-1486. https://doi.org/10.1007/s00709-016-1037-0
2. Ahmad, P., Ahanger, M. A., Alyemeni, M. N., Wijaya, L., & Alam, P. (2018). Exogenous application of nitric oxide modulates osmolyte metabolism, antioxidants, and expression of salt transport genes in tomato under salt stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, *127*, 404-412. https://doi.org/10.1007/s00709-017-1132-x
3. Ahmed, N., Abid, M., Rashid, A., Abou-Shanab, R., & Ahmad, F. (2014). Influence of boron nutrition on membrane leakage, chlorophyll content and gas exchange characteristics in cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Journal of Plant Nutrition*, *37*(14), 2302-2315. https://doi.org/10.1080/01904167.2014.912325
4. Altaey, D. K., & Majid, Z. Z. (2018). The activity of antioxidants enzymes and NPK contents as affected by water qaulity, kinetin, bio and organic fertilization in lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Iraqi Journal of Agricultural Sciences*, *49*(3). https://doi.org/10.36103/ijas.v49i3.123
5. Al-Temimi, A., Al-Ghrairi, S., Al-Ghrairi, F., & Razaq, I. (2020). Effect of potassium and micronutrient fertilization on the activity of catalase and yield of wheat grown in saline conditions. *DYSONA-Applied Science*, *1*(3), 81-87. https://doi.org/10.30493/das.2020.239977
6. Ashraf, M., Shahzad, S. M., Imtiaz, M., Rizwan, M. S., Arif, M. S., & Kausar, R. (2018). Nitrogen nutrition and adaptation of glycophytes to saline environment: A review. *Archives of Agronomy and Soil Science*, *64*(9), 1181-1206. https://doi.org/10.1080/03650340.2017.1419571
7. Bates, L. S., Waldren, R. P., & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, *39*(1), 205–207. https://doi.org/10.1007/BF00018060
8. El-Mogy, M. M., Garchery, C., & Stevens, R. (2018). Irrigation with salt water affects growth, yield, fruit quality, and nutrient content in tomato. *HortScience*, *53*(7), 1007-1014. https://doi.org/10.1080/09064710.2018.1473482
9. FAO. (2021). The State of Food and Agriculture. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
10. Gul, H., Arif, M., Husna, Y. K., & Sayyed, A. (2019). Effect of boron, manganese and iron on growth, biochemical constituents and ionic composition of cowpea grown under salinity. *Journal of Applied Environmental and Biological Sciences*, *9*(3), 1-12.
11. Hadwan, M. H. (2018). Simple spectrophotometric assay for measuring catalase activity in biological tissues. *BMC Biochemistry*, *19*, 7. https://doi.org/10.1186/s12858-018-0097-5
12. Hafez, E. M., Alsohim, A. S., Farig, M., Omara, A. E. D., Rashwan, E., & Kamara, M. M. (2019). Synergistic effect of biochar and plant growth promoting rhizobacteria on alleviation of water deficit in rice plants under salt-affected soil. *Agronomy*, *9*(12), 847. https://doi.org/10.3390/agronomy9120847

13. Hänsch, R., & Mendel, R. R. (2009). Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl). *Current Opinion in Plant Biology*, *12*(3), 259–266. https://doi.org/10.1016/j.pbi.2009.05.006
14. Hawkesford, M., Horst, W., Kichey, T., Lambers, H., Schjoerring, J., Skrumsager Møller, I., & White, P. (2012). Functions of macronutrients. In Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants, 135-189. Academic Press.
15. Isayenkov, S. V., & Maathuis, F. J. M. (2019). Plant salinity stress: Many unanswered questions remain. *Frontiers in Plant Science*, *10*, 80. https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00080
16. Izadi, Z., & Rezaei Nejad, A. (2020). Effect of different iron concentrations and staircaseiron regime on some morphological, biochemical and flowering characteristics of *Calendula officinalis*. *Journal of Horticultural Science*, *34*(2), 349-360. (In Persian). https://doi.org/10.22067/jhorts4.v34i2.82363
17. Jafari, A., Rasoli, F., Behtash, F., Mosavi, S. B. M., Ferdowsi Qebchaq, P., & Asadi, M. (2024). Evaluation of different concentrations of Fe and Zn in nutrient solution on yield, biochemical, and nutrient content of spinach in soilless conditions. *Journal of Vegetables Sciences*, *8*(15), 183-200. (In Persian). https://doi.org/10.22034/iuvs.2023.2010676.1316
18. Juarez-Maldonado, A., de-Alba-Romenus, K., Morales-Díaz, A. B., & Benavides-Mendoza, A. (2017). Macro-nutrient uptake dynamics in greenhouse tomato crop. *Journal of Plant Nutrition*, *40*(13), 1908-1919. https://doi.org/10.1080/01904167.2016.1270310
19. Kakubari, S., Sakaida, K., Asano, M., Aramaki, Y., Ito, H., & Yasui, A. (2020). Determination of lycopene concentration in fresh tomatoes by spectrophotometry: A collaborative study. *Journal of AOAC International*, *103*(6), 1619-1624. https://doi.org/10.1093/jaoacint/qsaa050
20. Kaviani, B., & Negahdar, N. (2021). Effect of nano-iron chelate and cycocel on growth parameters of poinsettia. *Journal of Horticultural Sciences*, *38*(2), 281–301. (In Persian). https://doi.org/10.22067/jhs.2021.72172.1086
21. Latifikhah, E., Eshghi, S., Gharaghani, A., Tafazoli, E., & Razaghi, F. (2019). Effect of foliar application of Brassinosteroids on growth, yield and fruit quality of two strawberry cultivars under salt stress in soilless culture. *Iranian Journal of Horticultural Science*, *50*(3), 697-707. (In Persian). https://doi.org/10.22059/ijhs.2018.262213.1480
22. Liu, T., Dong, X., Guo, K., Wang, J., Liu, X., & Sun, H. (2024). Effects of fertilizer types and application levels on phosphorus availability of saline soils and crops: A meta-analysis. *Land Degradation & Development*, *35*(13), 4068-4080. https://doi.org/10.1002/ldr.5205
23. Mallick, S., Das, R. C., Zakir, H. M., & Alam, M. S. (2021). Effect of zinc and boron application on lycopene and nutritional qualities of tomato. *Journal of Scientific Research and Reports*, *27*, 27-36. https://doi.org/10.9734/jsrr/2021/v27i330367
24. Mansour, M. M. F., & Hassan, F. A. S. (2022). How salt stress-responsive proteins regulate plant adaptation to saline conditions. *Plant Molecular Biology*, *108*(3), 175–224. https://doi.org/10.1007/s11103-021-01232-x
25. Marschner, H. (2012). Mineral Nutrition of Higher Plants. 3rd ed. pp. xv, 651. England: Academic Press, London.
26. Mellat Broker. (2024). Tomato cultivated area in Iran year-by-year summary (Analytical Report). https://www.mellatbroker.ir/upload/files/reports/1709117082651.pdf
27. Minazadeh, R., Karimi, R., & Mohammadparast, B. (2018). The effect of foliar nutrition of potassium sulfate on morpho-physiological indices of grapevine under salinity stress. *Journal of Plant Biological Sciences*, *10*(3), 83-106. (In Persian). https://doi.org/10.22108/ijpb.2018.111936.1105
28. Mirabi, E., Seifi, E., & Hokmabadi, H. (2024). Effects of salinity on antioxidant enzymes and some morphophysiological traits of two interspecies hybrid pistachio rootstocks. *Journal of Plant Production Research*, *31*(1), 213-229. (In Persian). https://doi.org/10.22069/jopp.2023.21976.3097
29. Moallaye Mazraei, S., Khaleghi, E., & Enayatizamir, N. (2024). Evaluation of the effect of plant growth-promoting bacteria and potassium nitrate on the growth characteristics and gas exchange of lime (*Citrus aurantifolia*) under drought stress. *Journal of Plant Production Research*, *32*(3), 135–161. (In Persian). https://doi.org/10.22069/jopp.2024.22647.3167
30. Mohammad Nejad Ganji, S. M., Zarei, H., Khoshhal Sarmast, M., & Akbarpour, V. (2024). Evaluation of the combined use of auxin and nutrients for root stimulation in stem cuttings of *Ligustrum lucidum*. *Journal of Plant Production Research*, *31*(2), 1-22. (In Persian). https://doi.org/10.22069/JOPP.2023.20769.2980
31. Nateghi, S., Pirzad, A., & Darvishzadeh, R. (2015). Effect of Fe and Zn micro nutrients on yield and yield components of *Pimpinella anisum* L. *Journal of Horticultural Science*, *29*(1), 37-46. (In Persian). https://doi.org/10.22067/jhorts4.v0i0.48438
32. Noormohammadi, Z., Ismailpour, B., Azarmi, R., Shiekhalipour, M., Chamani, E., & Shahbazi Yajlo, R. (2021). Effect of melatonin tretment on growth and physiologycal and biochemical characteristics of *Stevia rebaudiana* berton under salt stress conditions. *Journal of Vegetables Sciences*, *5*(9), 1-15. (In Persian). https://doi.org/10.22034/iuvs.2021.534020.1170

33. Nouri, M., Dashti, F., & Bayat, F. (2015). Changes in vegetative growth indices and yield of garlic (*Allium sativum* L.) in different sources and levels of nitrogen fertilizer. *Journal of Vegetables Sciences*, *1*(1), 21-32. (In Persian). https://doi.org/10.22034/iuvs.2015.15357
34. Panahandeh, J., Zare Far, M. S., Motallebi-Azar, A., Zare Nahandi, F., & Amani, M. (2024). Investigating the effect of salicylic acid on reduce salinity stress in tomatoes. *Journal of Horticultural Science*, *37*(4), 931-948. (In Persian). https://doi.org/10.22067/jhs.2023.79421.1206
35. Perez-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.
36. Plaxton, W. C., & Tran, H. T. (2011). Metabolic adaptations of phosphate-starved plants. *Plant Physiology*, *156*(3), 1006-1015. https://doi.org/10.1104/pp.111.175281
37. Rahman, A., Harker, T., Lewis, W., & Islam, K. R. (2023). Nano and chelated iron fertilization influences marketable yield, phytochemical properties, and antioxidant capacity of tomatoes. *Plos One*, *18*(11), e0294033. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0294033
38. Rasouli, F., Abedini, F., & Fakhreghazi, S. H. (2019). The effect of zinc oxide nanoparticles on the physiological characteristics in pepper (*Capsicum annum* L.) under salinity stress. *Journal of Crop Production and Processing*, *9*(2), 125–139. https://doi.org/10.29252/jcpp.9.2.125
39. Safdar, H., Amin, A., Shafiq, Y., Ali, A., Yasin, R., Shoukat, A., & Sarwar, M. I. (2019). A review: Impact of salinity on plant growth. *Natural Sciences*, *17*(1), 34-40. https://doi.org/10.7537/marsnsj170119.06
40. Schmidt, S. B., Jensen, P. E., & Husted, S. (2016). Manganese deficiency in plants: The impact on photosystem II. *Trends in Plant Science*, *21*(7), 622-632. https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.03.001
41. Seifi, A., Ahmadi, A., & Poustini, K. (2023). The effect of thiamine and pyridoxine on yield and some physiological wheat traits under drought stress conditions. *Iranian Journal of Field Crop Science*, *54*(1), 11-25. (In Persian). https://doi.org/10.22059/ijfcs.2022.328186.654884
42. Shigeto, J., & Tsutsumi, Y. (2016). Diverse functions and reactions of class III peroxidases. *New Phytologist*, *209*(4), 1395–1402. https://doi.org/10.1111/nph.13738
43. Shireen, F., Nawaz, M. A., Chen, C., Zhang, Q., Zheng, Z., Sohail, H., & Bie, Z. (2018). Boron: Functions and approaches to enhance its availability in plants for sustainable agriculture. *International Journal of Molecular Sciences*, *19*(7), 1856. https://doi.org/10.3390/ijms19071856
44. Singh, S., Tripathi, D. K., Singh, S., Sharma, S., Dubey, N. K., Chauhan, D. K., & Vaculík, M. (2017). Toxicity of aluminium on various levels of plant cells and organism: A review. *Environmental and Experimental Botany*, *137*, 177-193. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2017.01.005
45. Toupchi Khosrowshahi, Z., Salehi-Lisar, S. Y., Ghassemi-Golezani, K., & Motafakkerazad, R. (2019). Effect of polyamines on antioxidative responses of safflower (*Carthamus tinctorius*) under drought stress. *Journal of Plant Production Research*, *26*(2), 157-171. (In Persian). https://doi.org/10.22069/jopp.2019.14942.2337
46. Wang, M., Zheng, Q., Shen, Q., & Guo, S. (2013). The critical role of potassium in plant stress response. *International Journal of Molecular Sciences*, *14*(4), 7370-7390. https://doi.org/10.3390/ijms14047370
47. Weisany, W., Sohrabi, Y., Heidari, G., Siosemardeh, A., & Badakhshan, H. (2014). Effects of zinc application on growth, absorption and distribution of mineral nutrients under salinity stress in soybean (*Glycine max* L.). *Journal of Plant Nutrition*, *37*(14), 2255-2269. (In Persian). https://doi.org/10.1080/01904167.2014.920386
48. Ziachehre, M., Tobeh, A., Hassanpanah, D., & Farzaneh, S. (2023). Influence of planting date and foliar application of antifreeze compounds on some morpho-physiological traits of potato cultivars in Ardabil region. *Journal of Vegetables Sciences*, *7*(14), 136-159. (In Persian). https://doi.org/10.22034/iuvs.2022.1971753.1245

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

Research Article
Vol. 40, No. 3, Fall 2026, p. 537-547

Medium Optimization for Callogenesis, Shoot Regeneration and Rooting of *Hypericum perforatum* from Shoot and Leaf Explants

N. Afsharzadeh[1], M. Azizi[1*], L. Samiei[1*]

1- Department of Horticultural Science and Landscape Architecture, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
(*- Corresponding author's Email: azizi@um.ac.ir)

Received: 28 November 2017
Revised: 15 February 2023
Accepted: 04 April 2020
Available Online: 05 April 2021

How to cite this article:
Afsharzadeh, N., Azizi, M., & Samiei, L. (2026). Medium optimization for callogenesis, shoot regeneration and rooting of *Hypericum perforatum* from shoot and leaf explants. *Journal of Horticultural Science*, *40*(3), 537-547. (In Persian). https://doi.org/10.22067/jhs.2021.60331.0

Introduction

Hypericum perforatum is a perennial plant that has been used in traditional medicine. *H. perforatum* have several types of medicinal compounds including antiviral compounds, antioxidants, flavonoids and also has valuable compounds such as Hypericin, Hyperforin, Pseudo-hypericin and xanthones that have effect on human physiology. Aerial parts of *H. perforatum* are dotted with dark glands that appear as black nodules. Black glands were known as localization of secondary metabolites. As a consequence of the commercial potential of this species attempts have been at plant improvement by application of in vitro culture methods. Among seedling explants of *H. perforatum*, it appears that roots are superior for shoot regeneration. It is generally accepted that explants source is an important factor r successful establishment of tissue culture in many cases. Production of secondary metabolites via plant cell and tissue culture yields various advantages, including standardization and quality. These criteria are also valid for the main economically important chemical in *st. John's wort*, namely hypericin, pseudo hypericin and hyperforin. The aim of this study was to evaluate the effect of some tissue cultures on plant callogenesis, regeneration and also, study the effect of cytokinin and auxin on rooting rate and shoot multiplication.

Materials and Methods

This research included two experiments; first experiment was a completely randomized design in the form of factorial research. Second experiment was completely randomized design. First part of experiment: this part was conducted with two explants type, leaf and shoot which, maintained in light and dark condition. Shoot explants were derived from sterile seedlings that was obtained from seeds which were cultured on MS medium. Seeds were decontaminated by NaClO 20% (V/V) for 20 min and were washed with sterile deionized water. Leaf explants were derived from seedlings in the *in vivo* condition and decontaminated by NaClO 20% (V/V) for 20 min then washed with sterile deionized water. Both of the explants cultured on MS medium supplemented with BA (3 and 4 $mg.l^{-1}$) and 2,4-D (0, 1 and 2.5 $mg.l^{-1}$). Callogenesis and regeneration were measured after 4 weeks. Second part of experiment: shoot of indirect regeneration for rooting study, were cultured on ½ MS medium supplemented with BA (0 and 0.5 $mg.l^{-1}$) and IBA (0 and 1 $mg.l^{-1}$). Proliferation, shoot and root length were measured after 4 and 8 weeks.

Results and Discussion

Effects of the factors on first part of experiment; calluses of shoot and leaf explants were induced after 4 weeks. Shoot explants in medium supplemented with 4 $mg.l^{-1}$ BA and 2.5 $mg.l^{-1}$ 2, 4-D showed 95% callogenesis. Leaf explants in medium supplemented with 3 $mg.l^{-1}$ BA and 2.5 $mg.l^{-1}$ 2, 4-D showed 98% callogenesis. Shoot explants

Authors retain the copyright. This is an open access article distributed under Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0).
https://doi.org/10.22067/jhs.2021.60331.0

in medium supplemented with BA (3 $mg.l^{-1}$) showed 62% regeneration and leaf explants in medium supplemented with BA (4 $mg.l^{-1}$) showed 8% regeneration. For second part of experiments; root induction on half strength medium without hormone and medium supplemented with 0.5 $mg.l^{-1}$ BA and 1 $mg.l^{-1}$ IBA had the highest rooting frequencies. Average of root length was registered as 5.25 cm. half strength medium supplemented with 0.5 $mg.l^{-1}$ BA had 100% and also, medium with 0.5 $mg.l^{-1}$ BA and 1 $mg.l^{-1}$ IBA had 86% shoot multiplication and were not appeared any roots. Average shoot length on medium without hormone and medium supplemented with 0.5 $mg.l^{-1}$ BA and 1 $mg.l^{-1}$ IBA was registered as 6.24 cm and in media with 0.5 $mg.l^{-1}$ BA and 1 $mg.l^{-1}$ IBA was registered as 1.8 cm. Based on the result of this experiments, the concentration levels of the two hormones BA and 2, 4-D in the induction of calli formation and regeneration of the *H. perforatum* have been effective. In the second experiment, hormone BA, in the absence of IBA did not cause rooting and increased the degree of shoots and ultimately proliferation was effective. Also, in treatment with 0.5 $mg.l^{-1}$ BA and 1 $mg.l^{-1}$ IBA, although the concentration of cytokinin was less than auxin, rooting was not done.

Conclusion

The goal of this study was to introduce the suitable medium for callogenesis and regeneration of *H. perforatum* for production and breeding aims. Tissue and cell culture methods are used for various purposes. The result of each section can be used effectively in research topics, including corrective tests, processes for increasing secondary metabolites, as well as increasing commercial products. Therefore, by introducing efficient and effective methods, it is possible to increase the production of plants by micropropagation in less time.

Keywords: Auxins, *In vitro* culture, Micropropagation, Secondary metabolites, 6-benzylaminopurine

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

مقاله پژوهشی

جلد ۴۰، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۵، ص. ۵۴۷-۵۳۷

بهینه‌سازی محیط‌کشت گل راعی (*Hypericum perforatum*) با هدف کال‌زایی، باززایی و ریشه‌زایی ریزنمونه‌های برگ و ساقه

نگین افشارزاده[۱]- مجید عزیزی[۱*]- لیلا سمیعی[۱]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۹/۰۷
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۱/۱۶

چکیده

گل‌راعی (*Hypericum perforatum*) با نام‌های فارسی هوفاریقون، هزارچشم و گل شهناز، گیاهی چندساله و دارای مواد مؤثره باارزشی همچون هایپریسین، سودوهایپریسین و هایپرفورین می‌باشد که از حیث اثرات ضدافسردگی، ضدسرطانی و افزایش ایمنی‌بدن اهمیت دارد. کاربرد تکنیک‌های کشت بافت در این گیاه به‌منظور هدایت آن به سمت تولید مواد دارویی ارزشمند آن می‌باشد. لذا این پژوهش با هدف بهینه‌سازی محیط‌کشت در راستای تولید کالوس، باززایی و ریشه‌زایی صورت گرفت. این پژوهش به‌صورت دو آزمایش مجزا در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا گردید. آزمایش اول شامل شش تیمار هورمونی با سطوح متفاوتی از بنزیل‌آدنین و توفوردی برروی دو ریزنمونه برگ و ساقه، تحت دو شرایط نور و تاریکی بود. نمونه‌های تیمارشده از لحاظ میزان کال‌زایی و باززایی مورد بررسی قرار گرفتند. در آزمایش دوم، نمونه‌های باززایی‌شده از ریزنمونه ساقه به‌منظور ریشه‌زایی به محیط‌کشت با چهار تیمار هورمونی شامل بنزیل آدنین و ایندول بوتیریک اسید انتقال یافتند. نتایج نشان داد که در آزمایش اول برای ریزنمونه برگ، تیمار بنزیل آدنین با غلظت سه میلی‌گرم بر لیتر و توفوردی با غلظت ۲/۵ میلی‌گرم بر لیتر با ۹۸ درصد و برای ریزنمونه ساقه، تیمار بنزیل آدنین با غلظت چهار میلی‌گرم بر لیتر و توفوردی با غلظت ۲/۵ میلی‌گرم بر لیتر با ۹۵ درصد بیشترین میزان کال‌زایی را داشتند. از نظر باززایی نیز در ریزنمونه‌های برگ و ساقه به‌ترتیب تیمارهای حاوی چهار میلی‌گرم بر لیتر و سه میلی‌گرم بر لیتر بنزیل آدنین ۸ و ۶۲ درصد باززایی نشان دادند. در آزمایش دوم، نمونه‌های باززایی‌شده کالوس ساقه نیز در تیمار حاوی ایندول بوتیریک اسید با غلظت یک میلی‌گرم بر لیتر و تیمار فاقد هورمون بیشترین میزان ریشه‌زایی و در تیمار حاوی ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر بنزیل آدنین همراه با ایندول بوتیریک اسید یک میلی‌گرم بر لیتر و تیمار فاقد ایندول بوتیریک اسید به‌ترتیب ۱۰۰ و ۸۶ درصد پُرآوری نشان دادند و ریشه‌زایی نداشتند.

واژه‌های کلیدی: اکسین، ریزازدیادی، کشت درون‌شیشه‌ای، متابولیت‌های ثانویه، ۶- بنزیل‌آمینوپورین

مقدمه

گل راعی، گیاهی چندساله با نام علمی *Hypericum perforatum* و متعلق به خانواده Hypericaceae می‌باشد. جنس *Hypericum* بیش از ۴۵۸ گونه را شامل می‌شود که گونه *H. perforatum* گیاهی چندساله و کُند رشد بوده و بومی آسیا، غرب اروپا و شمال آفریقا می‌باشد. این گیاه با نام انگلیسی St. John's Wort شناخته می‌شود. گل راعی حاوی ترکیبات بیولوژیکی قابل استخراج از جمله نفتودیانترون‌ها [۲]، فلوروگلوسینول‌ها [۳]، فلاونوییدها [۴]، پروآنتوسیانیدین‌ها[۵]، تانن‌ها[۶]، اسانس[۷]، فنیل پروپانوئید[۸]، زانتون‌ها و

۱- گروه علوم باغبانی و فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: azizi@um.ac.ir)

https://doi.org/10.22067/jhs.2021.60331.0

2- Naphthodianthrone
3- Phloroglucinol
4- Flavonoid
5- Procyanidin
6- Tannin
7- Essential oil
8- Phenilpropanoid

دیگر ترکیبات قابل حل در آب می‌باشد (Levin & Hickman, 1993; Kirakosyan, Gibson et al., 2004). همچنین این گیاه دارای مواد مؤثره از خانواده آنتراکوئینون‌های فعال نوری؛ هایپریسین، هایپرفورین و سودوهایپریسین است که دارای خواص ضدسرطانی، درمان زخم، ضدویروس، بهبود سوختگی، مسکن، ضدباکتری و مؤثر در درمان افسردگی‌های خفیف تا متوسط می‌باشد. مواد مؤثره گل راعی در بخش‌های هوایی شامل برگ، ساقه و گلپوش‌هاست. این مواد در غده‌های کوچک و سیاه رنگ در بخش‌های ساقه و برگ‌ها پراکنده‌اند که به‌صورت ساختارهای تیره در حاشیه برگ‌ها و گل‌برگ‌ها ظهور می‌یابند. طبق پژوهش‌های صورت‌گرفته مشخص گردید که ترکیبات مؤثره گل راعی در برابر رتروویروس‌ها مقابله می‌کند و به‌عنوان دارویی گیاهی جهت درمان ایدز پیشنهاد شده است (Levin & Hickman, 1993; Pretto & Santarém, 2000).

اکنون روش‌های بسیاری به‌منظور افزایش متابولیت‌های ثانویه مهم گل راعی با استفاده از روش‌های آزمایشگاهی و همچنین از طریق کشت در شرایط مزرعه‌ای و گلخانه‌ای صورت گرفته است. یکی از جدیدترین پژوهش‌های صورت‌گرفته توسط توسوسکی و همکاران که (Tusevski et al., 2016) انجام گردید، براساس مقایسه میزان مواد مؤثره گل راعی در کشت درون شیشه‌ای و کشت در شرایط *in vivo* مشخص گردید که کالوس‌های حاصل حاوی ماده مؤثره دارویی تجاری و ارزشمند زانتون[1] می‌باشند. این ماده دارویی به‌صورت اختصاصی در کالوس‌های این گیاه تولید می‌شود، درحالی‌که در آنالیز ترکیبات حاصل از نمونه‌های رشدیافته در شرایط *in vivo* مشاهده نگردید (Tusevski et al., 2016).

در پژوهش‌های اخیر، هدایت گل راعی به سمت تولید درون شیشه‌ای با هدف تولید و استخراج ماده خام دارویی و ارزشمند زانتون مورد توجه قرار گرفته است. لذا وجود دستورالعمل با راندمان بالا جهت تولید کالوس‌های مناسب به‌منظور استخراج مواد مؤثره خاص و همچنین دست‌یابی به گیاهان باززایی‌شده به‌منظور تکثیر انبوه و انجام آزمایش‌هایی با اهداف اصلاحی در جهت بهبود میزان مواد مؤثره در گیاه گل راعی، از اهداف مورد بررسی در این پژوهش بوده است.

هیکمن (Hickman, 1993) به‌منظور استخراج متابولیت‌های ثانویه برگ، کال‌زایی و باززایی آن را مورد آزمایش قرار داده و بعد از پنج ماه در گلخانه سازگار نمودند. در پژوهشی دیگر آیان و کوسراگلو (Çirak et al., 2007)، باززایی مستقیم و غیرمستقیم گرهک‌ها و ریزنمونه‌های برگی گونه *H. bupleuroides* را مورد بررسی قرار دادند و توانستند بیش از ۹۰ درصد از گیاهچه‌های تولیدشده را سازگار نمایند. کورنفلد و همکاران (Kornfeld et al., 2007)، تحقیقاتی را در رابطه با ساختارهای گرهکی حاوی هایپریسین موجود در دو گروه مجزا از گیاه *H. perforatum* انجام دادند و با اندازه‌گیری صفات فیتوشیمیایی و ریخت‌شناختی، وضعیت استقرار غدد سیاه رنگ در سلول‌های پیرامونی موجود در اندام‌های سازنده متابولیت‌های ثانویه را مورد بررسی قرار دادند. عزیزی و همکاران (Azizi et al., 2002) نیز کشت درون شیشه‌ای گل راعی رقم توپاز[2] را به‌منظور استخراج مواد مؤثره آن مورد بررسی قرار دادند که مشخص شد، متابولیت‌های ثانویه گیاهچه‌های باززایی‌شده بیش از کالوس بود.

استخراج ماده مؤثره از کالوس باعث افزایش قابلیت تولید متابولیت‌های ثانویه می‌شود. افزایش مقدار و کیفیت ماده مؤثره باعث کاهش نیاز به ماده خام اولیه و در نتیجه تسهیل و کاهش عملیات کشاورزی می‌شود (Ayan et al., 2005). همچنین مطالعه فرآیند کال‌زایی، شاخه‌زایی و ریشه‌زایی گل راعی به‌عنوان تحقیقات بنیادی و پایه به‌منظور مطالعات انتقال ژن و تحقیقات بیوتکنولوژی ضروری است (Zhao et al., 2015). همچنین محدودیت منابع طبیعی و پیچیدگی سنتز برخی ترکیبات دارویی و ارزش تجاری بالای آن‌ها سبب تولید این متابولیت‌ها از طریق کشت درون شیشه‌ای شده و به‌منظور انتخاب ژرم پلاسم‌های برگزیده و گسترش تولیدات مؤثر متابولیت‌های ثانویه مورد بهره‌برداری قرار می‌گیرد (Upton, 1997). لذا هدف از انجام این آزمایش‌ها، بهینه‌سازی محیط کشت بافت گل راعی و انتخاب روش‌هایی با راندمان بالا در تولید کالوس، باززایی، تولید گیاهچه استریل و شناسایی روشی جهت تکثیر آسان (ریزازدیادی) گیاهان یکسان از نظر ژنتیکی، افزایش کیفیت و میزان ماده مؤثره در گل راعی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در دو آزمایش مجزا در قالب طرح کاملاً تصادفی در پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد اجرا گردید.

بذر مورد استفاده در این تحقیق، بذور توده بومی اردبیل بود که قبلاً توسط مؤلف طی چندین سال کشت با شرایط آب‌وهوایی مشهد سازگار شده بود. آزمایش اول به‌صورت فاکتوریل بوده و شامل شش تیمار با غلظت‌های متفاوتی از هورمون‌های بنزیل آدنین و توفوردی اجرا گردید. ریزنمونه‌های مورد بررسی در این آزمایش شامل برگ و میان‌گره بود. ریزنمونه‌های باززایی‌شده به‌منظور بررسی میزان ریشه زایی و پُرآوری به آزمایش دوم شامل چهار تیمار با غلظت‌های مختلف از هورمون‌های بنزیل آدنین و ایندول بوتیریک اسید انتقال یافتند.

1- Xanthon

2- Topaz

آزمایش اول

۱- کشت ریزنمونه ساقه

بدین منظور، ابتدا گیاهچه‌های استریل از طریق کشت بذر *H. perforatum* در شرایط درون‌شیشه‌ای تولید گردید. بذرها با استفاده از سدیم هیپوکلریت ۲۰ درصد (حجمی/حجمی) به مدت ۱۰ دقیقه ضدعفونی و سپس سه مرتبه با آب مقطر استریل آب‌شویی شد و در محیط کشت MS بدون هورمون کشت گردید (شکل ۱). پس از چهار هفته، ریزنمونه‌های مورد نظر از بخش ساقه شامل یک تا دو گره تهیه گردید و در محیط کشت MS کشت شد. محیط کشت مورد استفاده شامل نمک‌های MS و ویتامین‌های محیط B_5 بوده و حاوی ۳۰ گرم بر لیتر ساکارز و ۰/۷ درصد آگار بود. pH محیط کشت نیز ۵/۷۰ تا ۵/۸۰ تنظیم شد و در نهایت محیط مذکور در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۵ اتمسفر به مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو گردید. تنظیم‌کننده‌های رشد مورد استفاده شامل بنزیل آدنین با غلظت‌های (سه و چهار میلی‌گرم بر لیتر) و توفوردی (با غلظت‌های صفر، ۱ و ۲/۵ میلی‌گرم بر لیتر) بود و کشت‌های صورت‌گرفته در دمای ۲۵-۲۳ درجه سانتی‌گراد با دوره نوری هشت ساعت تاریکی و ۱۶ ساعت روشنایی قرار گرفت. نور مورد استفاده در بازه ۱۳۰۰ تا ۲۰۰۰ لوکس در نظر گرفته شد. در هر پتری حاوی ۲۵ میلی‌لیتر محیط کشت، ۱۰ ریزنمونه قرار گرفت. صفات مورد بررسی در پایان هفته چهارم اندازه‌گیری شد (شکل ۱).

۲- کشت ریزنمونه برگ

به‌منظور تهیه ریزنمونه‌های برگ از گیاهان رشدیافته در شرایط درون شیشه ای استفاده شد. جهت ضدعفونی ریزنمونه‌ها، سدیم هیپوکلریت ۲۰ درصد (حجمی/حجمی) به مدت ۲۰ دقیقه و سپس سه مرتبه آبکشی با آب مقطر استریل صورت گرفت. هر یک از نمونه‌های ضدعفونی‌شده به قطعات ۱۵ تا ۲۰ میلی‌مترمربع تقسیم و سپس در هر پتری حاوی ۲۵ میلی‌لیتر محیط کشت ۱۰ ریزنمونه قرار گرفت. محیط کشت به‌کاربرده‌شده و غلظت تنظیم‌کننده‌های رشدی اعمال‌شده مشابه با مشخصات ذکرشده در بخش کشت ریزنمونه ساقه بود. صفات مورد بررسی بعد از چهار هفته ثبت گردید (شکل ۲).

آزمایش دوم

ریشه‌زایی

بدین منظور، گیاهچه‌های باززایی‌شده حاصل از کالوس‌های ساقه به محیط کشت ½MS حاوی ۳۰ گرم بر لیتر ساکارز و ۰/۷ درصد آگار منتقل شدند. تنظیم‌کننده‌های رشدی مورد استفاده شامل غلظت‌های مختلفی از بنزیل آدنین (صفر و ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر) و ایندول بوتیریک اسید (صفر و ۱ میلی‌گرم بر لیتر) بود. اطلاعات تیمارها شامل طول ساقه، طول ریشه و میزان پُرآوری در پایان هفته چهارم و هشتم ثبت گردید (شکل ۳).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزارJMP نسخه 8، داده‌های آزمایش اول به‌صورت فاکتوریل و آزمایش دوم به‌صورت ساده در قالب طرح کاملاً تصادفی تجزیه شدند و سپس مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون توکی در سطح احتمال پنج درصد انجام گردید.

نتایج و بحث

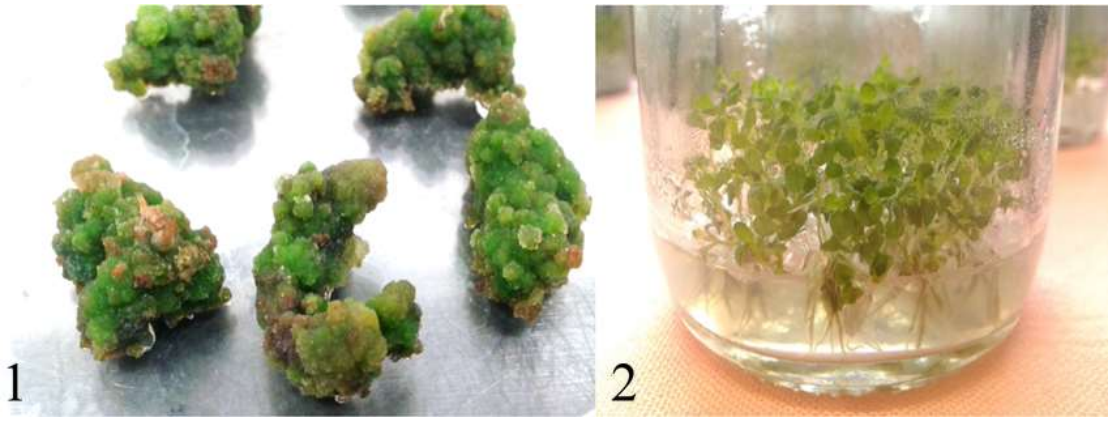
آزمایش اول

نتایج آزمایش اول نشان داد که بین سطوح تیمارهای دو هورمون بنزیل آدنین و توفوردی و همچنین اثر متقابل دو عامل غلظت هورمون‌ها و ریزنمونه برگ و ساقه از نظر کال‌زایی تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد وجود داشت. همچنین نتایج نشان داد که برهم‌کنش متقابل نور و تاریکی اثر معنی‌داری بر کال‌زایی دو ریزنمونه برگ و ساقه نداشت (شکل ۳).

از لحاظ باززایی نیز بین سطوح تیمارهای دو هورمون بنزیل آدنین و توفوردی بر هر دو ریزنمونه تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد مشاهده شد. همچنین بین اثر متقابل روشنایی و تاریکی و ریزنمونه ساقه تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد مشاهده گردید، درحالی‌که عامل روشنایی و تاریکی بر ریزنمونه برگ اثر معنی‌داری نداشت.

کال‌زایی ریزنمونه ساقه

بررسی ریزنمونه‌های کشت‌شده ساقه نشان داد که پس از ۱۰ روز، القای کالوس آغاز گردید و تا پایان هفته چهارم کالوس‌ها تولید شدند. رنگ کالوس‌ها براساس شرایط تاریکی و نور و همچنین سطوح مختلف هورمونی، طیفی از سبز کم‌رنگ و شیری رنگ تا سبز تیره داشتند. در ریزنمونه ساقه، تیمار حاوی چهار میلی‌گرم بر لیتر بنزیل آدنین و ۲/۵ میلی‌گرم بر لیتر توفوردی با ۹۵ درصد کال‌زایی و تیمار حاوی سه میلی‌گرم بر لیتر بنزیل آدنین و یک میلی‌گرم بر لیتر توفوردی با ۸۶ درصد کال‌زایی بیشترین درصد تولید کالوس را داشت و کمترین میزان کال‌زایی در تیمار چهار میلی‌گرم بر لیتر بنزیل آدنین و فاقد توفوردی ثبت شد (شکل ۳).



شکل ۱- کال‌زایی ساقه (۱) و گیاهچه‌های بذری استریل (۲) در گل راعی

Figure 1– Shoot callogenesis (1) and sterile seedling (2) of *Hypericum perforatum*

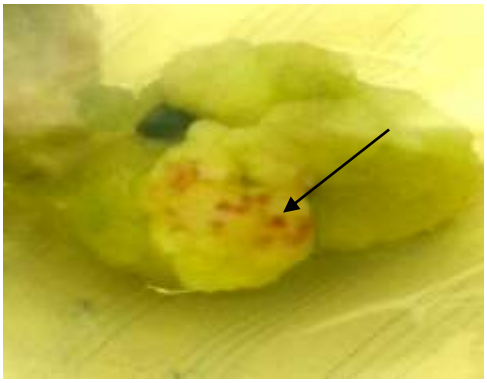
کال‌زایی ریزنمونه برگ

القای کالوس با تغییر رنگ برگ‌ها از سبز به قهوه‌ای تیره و متورم شدن آن در هفته دوم آغاز شده و تا پنج هفته به طول انجامید. رنگ کالوس‌های باززایی‌شده از نمونه‌های برگ سبز تیره و دارای بافتی ترد و فشرده بود. لذا با توجه به بررسی‌های صورت‌گرفته در بین سطوح هورمونی مورد آزمایش، بهترین تیمار به‌منظور کال‌زایی ریزنمونه برگ، تیمار حاوی سه میلی‌گرم بر لیتر بنزیل آدنین و ۲/۵ میلی‌گرم بر لیتر توفوردی با ۹۵ درصد کال‌زایی و پس از آن تیمار حاوی چهار میلی‌گرم بر لیتر بنزیل آدنین و یک میلی‌گرم بر لیتر توفوردی با ۸۸ درصد کال‌زایی بود که بیشترین درصد کال‌زایی در ریزنمونه برگ را نشان دادند. همچنین کمترین درصد تولید کالوس در تیمار سه میلی‌گرم بر لیتر بنزیل آدنین و فاقد توفوردی مشاهده شد. بر روی کالوس‌های رشدیافته ریزنمونه برگ، وجود نقاط قرمز رنگ حاوی متابولیت‌های ثانویه به‌وضوح قابل مشاهده بود (شکل ۲، شکل ۳). در تیمار حاوی چهار میلی‌گرم بر لیتر بنزیل آدنین و ۲/۵ میلی‌گرم بر لیتر توفوردی هر دو ریزنمونه برگ و ساقه، کال‌زایی نشان دادند (شکل ۳).

باززایی ریزنمونه برگ و ساقه

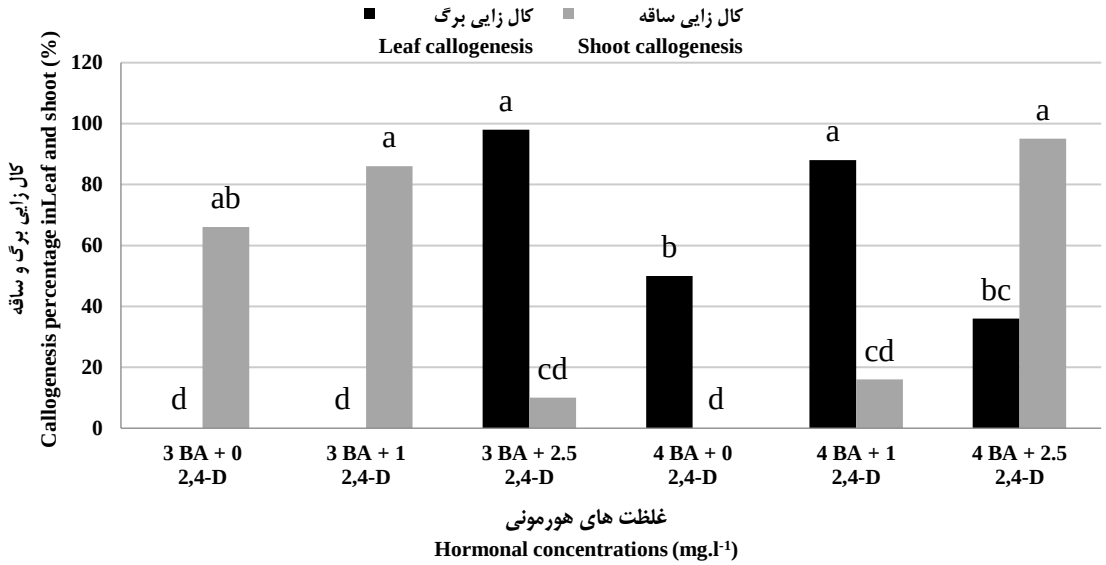
نتایج نشان داد که اثر دو عامل روشنایی و تاریکی و سطوح هورمون‌های بنزیل آدنین و توفوردی بر میزان باززایی ریزنمونه ساقه در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بوده ولی اثر معنی‌داری بر ریزنمونه برگ نداشت.

در کالوس‌های حاصل از ریزنمونه ساقه، تیمار حاوی سه میلی‌گرم بر لیتر بنزیل آدنین و فاقد توفوردی در شرایط روشنایی با ۶۲ درصد بیشترین میزان باززایی را نشان داد و تیمار حاوی چهار میلی‌گرم بر لیتر بنزیل آدنین و فاقد توفوردی در ریزنمونه برگ، هشت درصد باززایی را نشان داد (شکل ۴ و ۵). همچنین اثر کلی سطوح هورمونی تیمارها نشان داد که تیمار حاوی سه میلی‌گرم بر لیتر بنزیل آدنین و فاقد توفوردی در هر دو ریزنمونه برگ و ساقه سبب باززایی شد (شکل ۵).



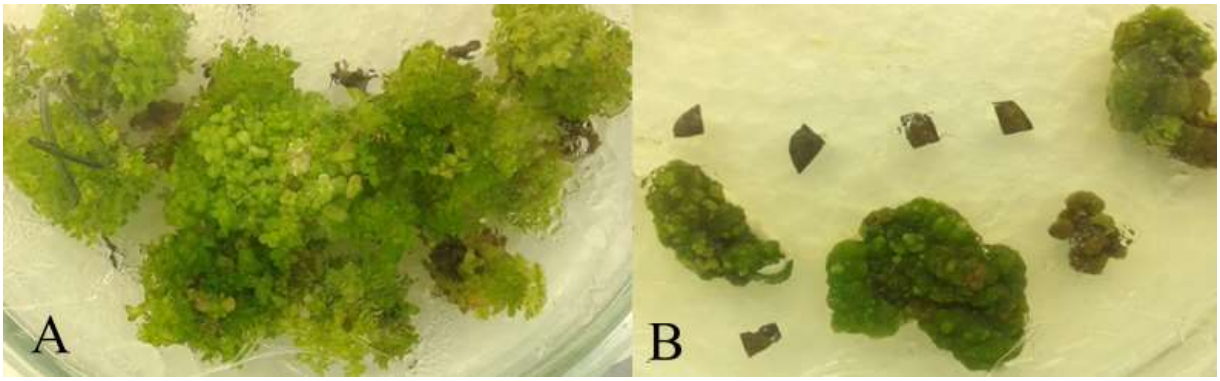
شکل ۲- کال‌زایی برگ در گل راعی (پیکان در شکل نشان‌دهنده نقاط قرمز تولیدکننده متابولیت‌های ثانویه است)

Figure 2- Leaf callogenesis in *Hypericum perforatum* (the arrow indicates the red spots producing secondary metabolites)



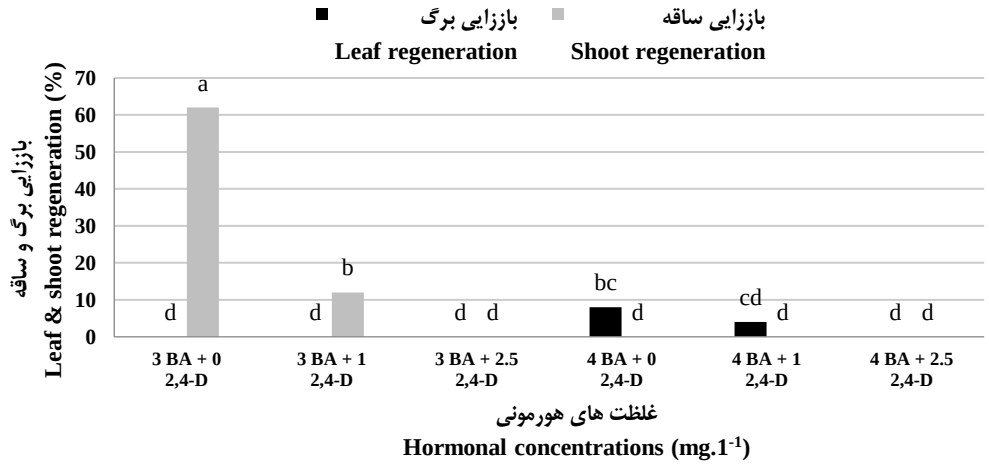
شکل ۳-اثر تیمارهای هورمونی بر میزان کال‌زایی برگ و ساقه گل راعی

Figure 3– Effect of hormone treatments on the leaf and shoot callogenesis of *Hypericum perforatum* (Tukey, $p \leq 0.05$).



شکل ٤– باززایی از ساقه (A) و برگ (B) گل راعی

Figure 4- Shoot (A) and leaf regeneration (B) of *Hypericum perforatum.*



شکل ٥- اثر تیمارهای هورمونی بر میزان باززایی برگ و ساقه گل راعی

Figure 5– Effect of hormone treatments on the leaf and shoot regeneration of *Hypericum perforatum* (Tukey, $p \leq 0.05$)

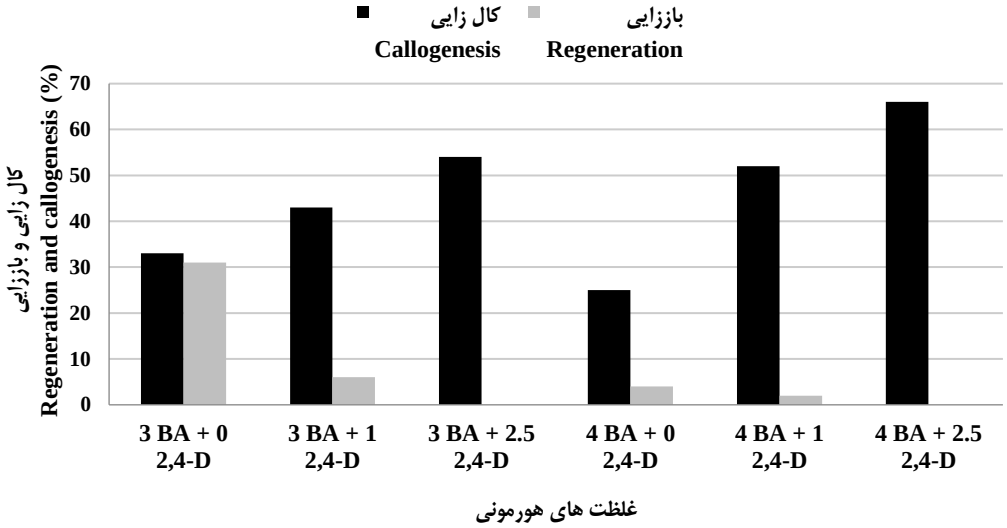
نتایج آزمایش دوم (ریشه‌زایی)

آزمایش دوم

اثر سطوح تیمار هورمون‌های ایندول بوتیریک اسید و بنزیل آدنین بر میزان ریشه‌زایی گیاهان در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود و بر میزان پُرآوری، طول گیاهچه‌ها و طول ریشه نیز تأثیر معنی‌داری داشت.

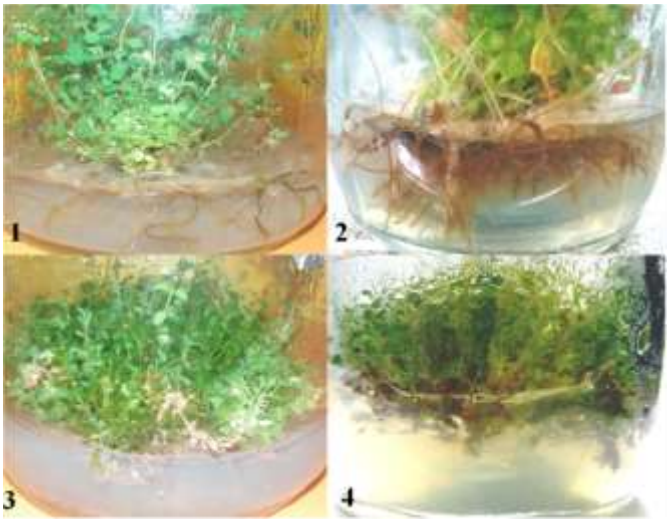
نتایج نشان داد که سطوح تیمار هورمون‌های ایندول بوتیریک اسید و بنزیل آدنین اعمال‌شده سبب اثر معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد بر طول ساقه و طول ریشه و همچنین بر میزان پُرآوری گیاهچه‌ها شد (شکل ۷ و ۸).

نتایج نشان داد که اثر سطوح هورمون بنزیل آدنین و ایندول بوتیریک اسید بر طول ساقه در تیمار فاقد هورمون با میانگین ۶/۲۴ سانتی‌متر تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد با تیمار حاوی ۰/۵ میلی‌گرم بنزیل آدنین به‌تنهایی و تیمار حاوی ۰/۵ میلی‌گرم بنزیل آدنین و یک میلی‌گرم ایندول بوتیریک اسید با میانگین ۱/۸ سانتی‌متر نشان داد (شکل ۸).



شکل ٦- اثر تیمارهای هورمونی بر میزان کال‌زایی و باززایی گل راعی

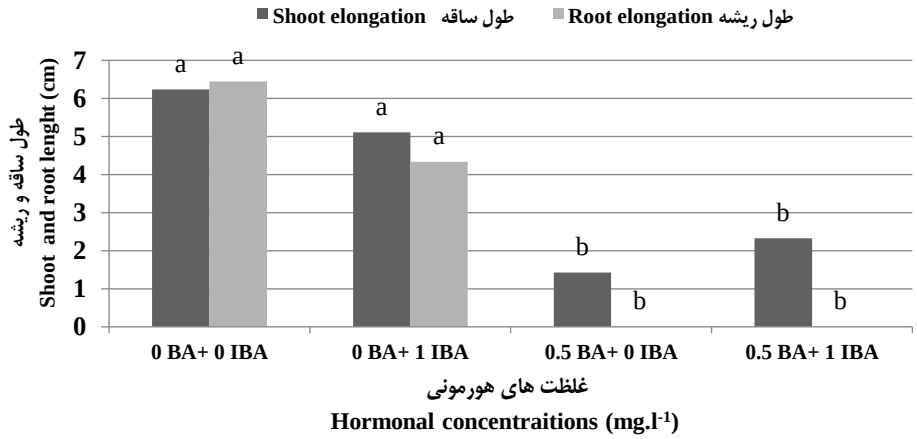
Figure 6– Effect of hormone treatments on the regeneration and callogenesis of *Hypericum perforatum* (Tukey, *p≤0.05*).



شکل ۷- وضعیت ریشه‌زایی ریزشاخه‌های گل راعی در محیط کشت فاقد هورمون (۱)، و حاوی یک میلی‌گرم بر لیتر ایندول بوتیریک اسید (۲)، ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر بنزیل آدنین (۳)، و ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر بنزیل آدنین + یک میلی‌گرم بر لیتر ایندول بوتیریک اسید

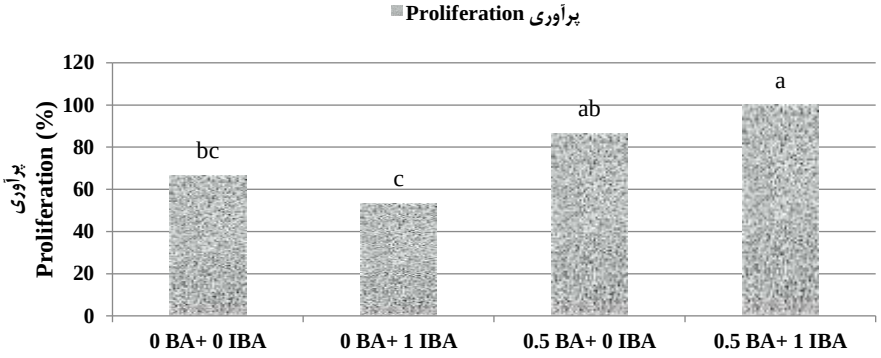
Figure 7- Rooting of i*n vitro* shoots of *Hypericum perforatum* inmedium without hormones (1), and with 1 mg.l^{-1} IBA(2), 5.0 mg.l^{-1} BA (3), and 5.0 mg.l^{-1} BA + 1 mg.l^{-1} IBA (4)

همچنین اثر سطوح هورمون بنزیل آدنین و ایندول بوتیریک اسید بر افزایش طول ریشه‌ها نشان داد که تیمارهای فاقد هورمون و تیمار حاوی یک میلی‌گرم ایندول بوتیریک اسید با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نداشتند، درحالی‌که با تیمار حاوی ۰/۵ میلی‌گرم بنزیل آدنین به‌تنهایی و تیمار حاوی ۰/۵ میلی‌گرم بنزیل آدنین و یک میلی‌گرم ایندول بوتیریک اسید تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد داشت. بیشترین میزان ریشه‌زایی در تیمار فاقد هورمون با حداقل میانگین طولی ۶/۲ سانتی‌متر و سپس تیمار حاوی یک میلی‌گرم ایندول بوتیریک اسید با حداقل میانگین طولی ۴/۳ سانتی‌متر ثبت شد. دو تیمار حاوی ۰/۵ میلی‌گرم بنزیل آدنین به‌تنهایی و حاوی ۰/۵ میلی‌گرم بنزیل آدنین و یک میلی‌گرم ایندول بوتیریک اسید ریشه‌زایی قابل اندازه‌گیری از خود بروز ندادند، درحالی‌که میزان پُرآوری آن‌ها به‌ترتیب ۱۰۰ و ۸۷ درصد بود و بیشترین میزان پُرآوری را داشتند (بیش از ۵۰ ساقه در هر سه سانتی‌مترمربع). تیمار فاقد هورمون و تیمار حاوی یک میلی‌گرم ایندول بوتیریک اسید نیز به‌ترتیب ۶۷ و ۵۳ درصد پُرآوری را نشان دادند (شکل ۷ و ۸ و ۹).



شکل ۸-اثر تیمارهای هورمونی بر طول ساقه و ریشه در گل راعی

Figure 8– Effect of hormone treatments on the shoot and root length of *Hypericum perforatum* (Tukey, *p≤0.05*).



شکل ۹- اثر تیمارهای هورمونی بر میزان شاخه‌زایی (پُرآوری) گل راعی

Figure 9– Effect of hormone treatments on the multiplication (proliferation) of *Hypericum perforatum* (Tukey, *p≤0.05*).

براساس نتایج این آزمایش، بیشترین میزان ریشه‌زایی در محیط کشت MS ½ بدون هورمون مشاهده شد که در مقالات متعددی گزارش شده است، درحالی‌که در تیمار حاوی هورمون بنزیل آدنین بدون حضور ایندول بوتیریک اسید سبب عدم ریشه‌زایی گردید و بر افزایش میزان شاخه‌زایی و در نهایت پُرآوری مؤثر بود. همچنین در تیمار حاوی ۰/۵ میلی‌گرم بنزیل آدنین و یک میلی‌گرم ایندول بوتیریک اسید اگرچه غلظت سایتوکینین از اکسین کمتر بود، ریشه‌زایی صورت نگرفت.

پرتو و سانتارئوم (Pretto & Santarém, 2000) نیز محیط ½ MS فاقد تنظیم‌کننده‌های رشدی را به‌عنوان محیط مناسبی برای ریشه‌زایی این گیاه معرفی کرد. نتایج تحقیقات گریسون و همکاران

(Greeson et al., 2001) نشان داد که ریشه‌زایی در محیط کشت ½ MS و فاقد هورمون نسبت به محیط حاوی یک میلی‌گرم ایندول بوتیریک اسید بیشتر بوده است که با نتایج حاصل از این آزمایش مطابقت دارد. همچنین فرانکلین و همکاران (Franklin et al., 2007) نیز در تحقیقات خود روی *H. perforatum* از محیط مایع ½ MS استفاده کردند. در پژوهشی که توسط قاضیان و همکاران (Ghazian Tafrishi et al., 2006) صورت گرفت، مقادیر ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر و ۰/۲۵ میلی‌گرم بر لیتر توفوردی و یک میلی‌گرم بر لیتر بنزیل آدنین بیشترین میزان کال‌زایی را داشت. در پژوهشی دیگر که توسط سلاروا و کیماکووا (Čellárová, & Kimakova, 1999) انجام شد، مشخص گردید که ایندول استیک اسید و ایندول بوتیریک اسید بیشترین اثر را بر ریشه‌زایی گل راعی گذاشتند. همچنین در پژوهشی که توسط شرفی و همکاران (Sharafi et al., 2013) صورت گرفت، استفاده از توفوردی و بنزیل آدنین بر میزان کال‌زایی ریزنمونه ساقه مؤثر بود و تفاوت بین سطوح غلظت‌های اکسین و سایتوکینین بر میزان کالوس‌زایی، شاخه‌زایی و ریشه‌زایی مؤثر بوده، اگرچه در ریزنمونه‌های مختلف ریشه، ساقه و برگ میزان ریشه‌زایی با نتایج متفاوتی همراه بود، اما به‌طورکلی اعمال اکسین به‌تنهایی در محیط کشت سبب افزایش ریشه‌زایی گردید، درحالی‌که با ترکیب مقادیر اکسین و سایتوکینین در محیط کشت میزان ریشه‌زایی در ریزنمونه‌های مختلف از جمله برگ و ساقه کاهش چشمگیری داشت که نتایج حاصل از این آزمایش را تأیید می‌کند. بررسی‌های صورت‌گرفته در مطالعات قبلی نشان داد که نتایج آزمایش‌های این مقاله با دستاوردهای پژوهش‌های صورت‌گرفته همسو بوده است (Schinazi et al., 1990). اگرچه تفاوت‌های جزئی در مقادیر هورمون‌های به‌کاررفته در تیمارهای این پژوهش با دیگر پژوهش‌های پیشین یافت شد (Kirakosyan, Sirvent et al., 2004). در پژوهشی که توسط بزو و استفانووا (Bezo & Stefunova, 2001) صورت گرفت، استفاده توأم از اکسین و سیتوکنین را بهترین شرایط برای باززایی شاخه در گل راعی معرفی نمود و محیط کشت حاوی ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر ایندول بوتیریک اسید به همراه پنج میلی‌گرم بر لیتر بنزیل آدنین را بهترین محیط کشت برای تولید بیشترین تعداد شاخه بیان کرد که نتایج به‌دست‌آمده در این پژوهش تأییدکننده آن نیست. در این آزمایش، میزان باززایی با افزایش توفوردی اثر منفی را نشان داد و بیشترین سطح کالوس‌زایی در سه میلی‌گرم بر لیتر بنزیل آدنین و ۲/۵ میلی‌گرم بر لیتر توفوردی در برگ و چهار میلی‌گرم بر لیتر بنزیل آدنین و ۲/۵ گرم بر لیتر توفوردی در ساقه گزارش شد. همچنین بیشترین میزان باززایی در سطح سه میلی‌گرم بر لیتر بنزیل آدنین برای برگ و چهار میلی‌گرم بر لیتر برای ساقه حاصل گردید. در نهایت محیط کشت پایه ½ MS بدون حضور هورمون بیشترین میزان ریشه‌زایی را داشت.

نتایج این پژوهش نشان داد که محیط کشت بهینه به‌منظور کال‌زایی ریزنمونه ساقه گل راعی حاوی چهار میلی‌گرم بر لیتر بنزیل آدنین و ۲/۵ میلی‌گرم بر لیتر ایندول بوتیریک اسید و برای ریزنمونه برگ محیط کشت حاوی سه میلی‌گرم بر لیتر بنزیل آدنین و ۲/۵ میلی‌گرم بر لیتر ایندول بوتیریک اسید است، همچنین محیط کشت بهینه به‌منظور باززایی ریزنمونه ساقه نیز حاوی سه میلی‌گرم بر لیتر بنزیل آدنین می‌باشد. نتایج حاصل از بررسی تیمارهای ریشه‌زایی نشان داد که ریشه‌زایی در محیط کشت فاقد هورمون و حاوی یک میلی‌گرم بر لیتر ایندول بوتیریک اسید دارای بیشترین میزان و بالاترین طول ریشه بود، درحالی‌که حضور نزیل آدنین به همراه ایندول بوتیریک اسید سبب کاهش ریشه‌زایی و حضور بنزیل آدنین به‌تنهایی در محیط کشت سبب عدم ریشه‌زایی گردید.

روش‌های کشت بافت و سلول با اهداف مختلفی صورت می‌گیرد که نتایج به‌دست‌آمده از هر بخش می‌تواند کاربرد مؤثری را در مباحث پژوهشی دیگر از جمله کاربرد در راستای آزمایش‌های اصلاحی، فرآیندهای افزایش متابولیت‌های ثانویه ارزشمند و در نهایت در افزایش راندمان تولیدات تجاری و غیره ایفا نماید. لذا با معرفی روش‌های کارآمد و مؤثر می‌توان میزان تولید گیاهان (از طریق ریزازدیادی) را در مدت زمان کمتری افزایش داده و با اعمال الیسیتورهای مناسب، نتایج حاصل را به سمت افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه هدایت نمود.

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که نوع ریزنمونه و تنظیم‌کننده‌های رشد بر پاسخ گل راعی در شرایط درون‌شیشه‌ای تأثیر می‌گذارند و مراحل مختلف کالوس‌زایی، باززایی و ریشه‌زایی این گیاه به شرایط هورمونی متفاوتی نیاز دارند. به‌طور کلی، استفاده از اکسین و سایتوکینین بر القای کالوس مؤثر بود و با کاهش میزان اکسین، باززایی شاخساره افزایش یافت. همچنین، تفاوت در پاسخ ریزنمونه‌های برگ و ساقه نشان داد که نوع ریزنمونه یکی از عوامل مهم در موفقیت کشت‌بافت این گیاه است.

در مجموع، در این تحقیق پروتکل تکثیر درون‌شیشه‌ای گل راعی به‌طور مؤثری به دست آمد. همچنین مشخص شد که مراحل مختلف کالوس‌زایی، باززایی و ریشه‌زایی گیاه به شرایط هورمونی متفاوتی نیاز دارد و لازم است هر مرحله به‌صورت جداگانه بهینه‌سازی شود. نتایج این تحقیق می‌تواند در مطالعات مربوط به تولید متابولیت‌های ثانویه و اصلاح گیاه این گیاه مورد استفاده قرار گیرد.

References

1. Ayan, A.K., Çirak, C., Kevseroglu, K., & Sökmen, A. (2005). Effects of explant types and different concentrations of sucrose and phytoharmones on plant regeneration and hypericin content in *Hypericum perforatum* L. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, *29*(3), 197-204.
2. Azizi, M., Jafari Mofid Abadi, A., & Omid Beigi, R. (2002). Investigation of in vitro cultures of *Hypericum perforatum* L. in the production of hypericin and other secondary metabolites. *Research and Construction*, *15*(1), 40-45. (In Persian)
3. Bezo, M., & Stefunova, V. (2001). Indirect regeneration of *Hypericum perforatum* L. under *in vitro* conditions. *Acta Fytotechnica et Zootechnica*, *4*, 277-279.
4. Čellárová, E., & Kimakova, K. (1999). Morphoregulatory effect of plant growth regulators on *Hypericum perforatum* L. seedlings. *Acta Biotechnologica*, *19*(2), 163-169. https://doi.org/10.1002/abio.370190210
5. Çirak, C., Ayan, A.K., & KevseroĞlu, K. (2007). Direct and indirect regeneration of plants from internodal and leaf expiants of *Hypencum bupleuroides gris*. *Journal of Plant Biology*, *50*(1), 24. https:/doi.org/10.1007/BF03030596
6. Franklin, G., Oliveira, M., & Dias, A.C.P. (2007). Production of transgenic *Hypericum perforatum* plants via particle bombardment-mediated transformation of novel organogenic cell suspension cultures. *Plant Science*, *172*(6), 1193-1203. https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2007.02.017
7. Ghazian Tafrishi, G., Azizi, M., & Farsi, M. (2006). Investigation of *in vitro* culture of Iranian St. John's Wort (*Hypericum perforatum* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 22(3)*, 172-179. (In Persian)
8. Greeson, J.M., Sanford, B., & Monti, D.A. (2001). St. John's wort (*Hypericumperforatum*), a review of the current pharmacological, toxicologicaland clinical literature. *Psychopharmacology*, *153*(4), 402-414. https://doi.org/10.1007/s002130000625
9. Kirakosyan, A., Gibson, D.M., & Sirvent, T. (2004). A comparative study of *Hypericum perforatum* plants as sources of hypericins and hyperforins. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, *10*(4), 73-88. https://doi.org/10.1300/J044v10n04_08
10. Kirakosyan, A., Sirvent, T.M., Gibson, D.M., & Kaufman, P.B. (2004). The production of hypericins and hyperforin by *in vitro* cultures of St. John's wort (*Hypericum perforatum*). *Biotechnology and Applied Biochemistry*, *39*(1), 71-81. https://doi.org/10.1042/BA20030144
11. Kornfeld, A., Kaufman, P.B., Lu, C.R., Gibson, D.M., Bolling, S.F., Warber, S.L., Chang, S.C., & Kirakosyan, A. (2007). The production of hypericins in two selected *Hypericum perforatum* shoot cultures is related to differences in black gland structure. *Plant Physiology and Biochemistry*, *45*(1), 24-32. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2006.12.009
12. Levin, G.A., & Hickman, J.C. (1993). The Jepson manual: Higher plants of California. California Botanical Society. California. https://doi.org/10.2307/1223166
13. Hickman, J.C. (Ed.) (1993). *The Jepson manual*: *Higher plants of California*. University of California press. Berkeley, CA.
14. Pretto, F.R., & Santarém, E.R (2000). Callus formation and plant regeneration from *Hypericum perforatum* leaves. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, *62*(2), 107-113. https://doi.org/10.1023/A:1026534818574
15. Schinazi, R.F., Chu, C.K., Babu, J.R., Oswald, B.J., Saalmann, V., Cannon, D.L., Eriksson, B.F., & Nasr, M. (1990). Anthraquinones as a new class of antiviral agents against human immunodeficiency virus. *Antiviral Research*, *13*(5), 265-272. https://doi.org/10.1016/0166-3542(90)90071-E
16. Sharafi, E., Khayam Nekoe, S.M., Fotokian, M.H., Davoodi, D., & Hasanloo, T. (2013). Effect of different growth regulators levels and explants types of callogenesis and organogenesis *Hypericum perforatum* L. under *in vitro* condition. *Agricultural Biotechnology Journal*, *5*(3), 57-66. (In Persian). https://doi.org/10.22103/jab.2013.1212
17. Tusevski, O., Stanoeva, J.P., Markoska, E., Brndevska, N., Stefova, M., & Simic, S.G. (2016). Callus cultures of *Hypericum perforatum* L. a novel and efficient source for xanthone production. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, *125*(2), 309-319. https://doi.org/10.1007/s11240-016-0951-3
18. Upton, R. (1997). St. John's Wort, *Hypericum perforatum*: Quality control, analytical and therapeutic monograph. Santa Cruz, CA: American Herbal Pharmacopoeia 32 p. En Hypericum_perforatum, medicines, review, Guttiferae, chemical_analysis, laboratory_tests (EBBD, 190107948).
19. Zhao, L., Liu, L., Wang, J., Guo, H., Gu, J., Zhao, S., Li, J., & Xie, Y. (2015). Development of a new wheat germplasm with high anther culture ability by using a combination of gamma-ray irradiation and anther culture. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *95*(1), 120-125. https://doi.org/10.1002/jsfa.6691

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

Research Article
Vol. 40, No. 3, Fall 2026, p. 549-569

The Effect of Humic Acid and Amino Acid Fertigation on Morpho-Physiological Changes in Greenhouse Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) (cv. Termeh) under Deficit Irrigation Conditions

M. Shahriari[1*], H. Aroiee[1], B. Abedy[1]

1- Department of Horticultural Science and Landscape Architecture, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
(*- Corresponding author's Email: mahdi.shahriari88@gmail.com)

Received: 20 September 2025
Revised: 20 December 2025
Accepted: 23 December 2025
Available Online: 23 December 2025

How to cite this article:
Shahriari, M., Aroiee, H., & Abedy, B. (2026). The effect of humic acid and amino acid fertigation on morpho-physiological changes in greenhouse tomato (*Solanum lycopersicum* L.) (cv. Termeh) under deficit irrigation conditions. *Journal of Horticultural Science*, *40*(3), 549-569. (In Persian). https://doi.org/10.22067/jhs.2025.95540.1464

Introduction

Water scarcity is a fundamental challenge to global food security, necessitating the optimization of water use in agriculture. Deficit irrigation (DI) has emerged as a key strategy to enhance water productivity, involving the controlled reduction of water application to minimize yield impact while significantly saving water. However, DI can induce physiological stress, disrupting vital processes like photosynthesis, nutrient uptake, and hormonal balance, ultimately compromising crop yield and quality. Greenhouse cultivation provides a controlled environment ideal for implementing DI strategies. To mitigate the adverse effects of water stress, the application of natural bio-stimulants like humic acid (HA) and amino acids (AA) has gained considerable attention. Humic acid improves soil structure, enhances water retention, and stimulates the absorption of macro and micronutrients. Amino acids play crucial roles as protein building blocks, osmo-regulators, and precursors to hormones, aiding in stress tolerance. This study aimed to evaluate the individual and comparative effects of humic acid and amino acid fertigation on the growth, yield, fruit quality, and nutrient uptake of greenhouse tomato (*Solanum lycopersicum* L. cv. Termeh) under deficit irrigation conditions.

Materials and Methods

The research was conducted in a commercial greenhouse in Mashhad, Iran. Two independent factorial experiments were laid out in a randomized complete block design (RCBD) with four replications. The experimental factors were: 1) Irrigation regime at two levels: full irrigation (100% of crop water requirement) and deficit irrigation (70% of crop water requirement); 2) Humic acid at two levels (0 and 3 $g.L^{-1}$) in the first experiment; and 3) Amino acid at two levels (0 and 1 $g.L^{-1}$) in the second experiment. The commercial HA product (70% humic acid, 15% fulvic acid, 12% K_2O) and AA product (80% free amino acids, 12.8% total nitrogen) were applied via fertigation at three growth stages: two weeks after transplanting, flowering initiation, and fruit set. A wide range of morphological traits, leaf nutrient content, quantitative qualitative fruit traits were measured at the fruit ripening stage. Data were analyzed using SPSS software (v.21), and means were compared using Duncan's multiple range test at a 5% probability level.

Results and Discussion

Morphological Traits: Deficit irrigation significantly reduced all morphological parameters. Main stem

Authors retain the copyright. This is an open access article distributed under Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0).
https://doi.org/10.22067/jhs.2025.95540.1464

length decreased by 7%, internode number dropped from 34.75 to 29.75, internode length from 4.17 cm to 3.53 cm, and leaf area by 13.58%. Shoot fresh and dry weight and root volume were also significantly reduced. Application of both HA and AA significantly improved all growth traits under both irrigation regimes. Humic acid not only compensated for the negative effects of drought stress but also enhanced growth beyond the full irrigation control level in many cases. Comparative analysis revealed the superior efficacy of HA over AA. This superiority was consistent under stress conditions, attributed to HA's multifaceted role in improving the rhizosphere environment and enhancing simultaneous water and nutrient availability.

Leaf Nutrient Content: Deficit irrigation caused a significant decrease in the concentration of all measured macro and micronutrients. Both bio-stimulants significantly enhanced nutrient uptake. Humic acid was more effective than AA in improving the uptake of nutrients especially P, Ca, and Fe under stress. This is likely due to HA's ability to stimulate root development, increase membrane permeability, and enhance microbial activity, thereby improving nutrient solubility and absorption.

Quantitative and Qualitative Fruit Traits: DI led to a 29% reduction in fruit number per cluster, a 6% reduction in single fruit weight, and a consequent 19% reduction in total yield (from 9.45 to 7.69 kg $plant^{-1}$). Both HA and AA application increased yield under DI, HA increased yield by 31% and AA by 29%. Regarding quality, DI reduced TSS and vitamin C content but increased carotenoids and lycopene. HA was particularly effective in increasing TSS by 59%, vitamin C by 18%, carotenoids by 17%, and lycopene by 10% under DI. AA showed positive but generally lesser effects on quality parameters. On average, HA demonstrated a 17.1% greater improvement in quantitative traits and a significant 42.5% greater improvement in qualitative traits compared to AA.

Conclusion

This study demonstrates that deficit irrigation at 70% of field capacity significantly impairs the growth, yield, and quality of greenhouse tomatoes. The application of both humic acid (3 $g.L^{-1}$) and amino acids (1 $g.L^{-1}$) effectively mitigated these negative impacts, often enhancing traits beyond the well-watered control. However, humic acid proved to be a superior bio-stimulant than amino acids in improving morphological development, enhancing nutrient uptake (particularly N, P, K, and Ca), and boosting both quantitative yield and qualitative fruit characteristics. Therefore, humic acid fertigation is recommended as a highly effective management strategy for sustaining greenhouse tomato production under water-limited conditions, ensuring higher yield and premium fruit quality while optimizing water use efficiency.

Keywords: Fertigation, Fruit yield, Growth traits, Nutrient elements, Organic acids

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

مقاله پژوهشی

جلد ۴۰، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۵، ص. ۵۶۹-۵۴۹

اثر کودآبیاری اسید هیومیک و اسید آمینه بر تغییرات مرفوفیزیولوژیکی گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum* L.) گلخانه‌ای رقم 'ترمه' تحت شرایط کم‌آبیاری

مهدی شهریاری[1*] - حسین آروئی[1] - بهرام عابدی[1]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۶/۲۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۰/۰۲

چکیده

کم‌آبیاری به‌عنوان یک راهکار مدیریتی برای بهینه‌سازی مصرف آب در کشاورزی مطرح است، امّا می‌تواند باعث کاهش رشد و عملکرد محصولات شود. این پژوهش با هدف بررسی اثر کودآبیاری اسید هیومیک و اسید آمینه بر ویژگی‌های مرفوفیزیولوژیکی، عملکرد و کیفیت میوه گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum* L.) گلخانه‌ای رقم 'ترمه' تحت شرایط کم‌آبیاری در قالب دو آزمایش مستقل انجام شد. آزمایش‌ها به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار در شرایط گلخانه‌ای اجرا گردید. تیمارها شامل دو سطح آبیاری (۱۰۰ و ۷۰ درصد نیاز آبی)، دو سطح اسید هیومیک (صفر و سه گرم در لیتر) و دو سطح اسید آمینه (صفر و یک گرم در لیتر) بودند. صفات ریخت‌شناختی، غلظت عناصر غذایی برگ، و صفات کمّی و کیفی میوه اندازه‌گیری و ارزیابی شدند. نتایج نشان داد که تنش کم‌آبیاری به‌طور معنی‌داری کلیه صفات رشدی، غلظت عناصر غذایی، عملکرد و اکثر شاخص‌های کیفی میوه را کاهش داد. کاربرد اسید هیومیک و اسید آمینه، این اثرات منفی را به‌طور قابل توجهی جبران کردند و در بسیاری از موارد، صفات را حتی نسبت به شاهد (آبیاری کامل بدون کود) نیز بهبود بخشیدند. اسید هیومیک در مقایسه با اسید آمینه برتری بیشتری در بهبود اکثر صفات اندازه‌گیری‌شده به‌ویژه جذب عناصر غذایی (مانند نیتروژن، فسفر و پتاسیم) و صفات کیفی میوه (مانند مواد جامد محلول، ویتامین ث، کاروتنوئیدها و لیکوپن) نشان داد. به‌طورکلی، می‌توان استفاده از اسید هیومیک (سه گرم در لیتر) و اسید آمینه (یک گرم در لیتر) را به‌عنوان راهکار مؤثر برای کاهش اثرات منفی کم‌آبیاری و بهبود عملکرد و کیفیت گوجه‌فرنگی گلخانه‌ای توصیه نمود.

واژه‌های کلیدی: اسیدهای آلی، صفات رشدی، عملکرد میوه، عناصر غذایی، کودآبیاری

مقدمه

گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum* L.) به‌عنوان یکی از مهم‌ترین محصولات باغی جهان، در تأمین نیازهای غذایی به‌صورت تازه‌خوری و همچنین کاربردهای صنعتی جایگاه ویژه‌ای دارد (Locatelli et al., 2024). با افزایش جمعیت و تغییرات اقلیمی، تأمین امنیت غذایی به یک چالش بنیادین تبدیل شده است که نیازمند استفاده بهینه از منابع موجود به‌ویژه منابع آب در کشاورزی است. با توجه به کاهش منابع آبی و محدودیت‌های شدید آبی در بسیاری از مناطق کشاورزی، روش‌های نوین مدیریتی همچون کم‌آبیاری [2] برای بهینه‌سازی مصرف آب در تولید محصولات زراعی مورد توجه قرار گرفته است (Xu et al., 2024). کم‌آبیاری به‌معنای کاهش کنترل‌شده مقدار و زمان آبیاری است، به‌گونه‌ای که کمترین آسیب به رشد گیاه وارد شود و در عین حال مصرف آب، بهینه شود (Mukherjee et al., 2023). این روش به‌عنوان یک راهبرد مؤثر برای مقابله با محدودیت آب مطرح است و با فراهم آوردن آبیاری در مراحل حساس رشد گیاه باعث افزایش کارآیی مصرف آب و حفظ عملکرد محصول می‌گردد. در واقع، کم‌آبیاری به‌گونه‌ای است که کاهش کمی در عملکرد محصول در ازای صرفه‌جویی قابل توجه در آب قابل قبول است. این روش نه‌تنها به صرفه‌جویی در منابع آب می‌انجامد، بلکه از طریق تحریک سازگاری‌های فیزیولوژیکی و ریخت‌شناختی گیاه، مقاومت آن را در برابر کم‌آبی افزایش می‌دهد (Amankwaa-Yeboah et al., 2023). کم‌آبیاری بر فعالیت‌های

۱- گروه مهندسی علوم باغبانی و فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

(*- نویسنده مسئول: (Email: mahdi.shahriari88@gmail.com

https://doi.org/10.22067/jhs.2025.95540.1464

2- Deficit irrigation

حیاتی گیاه اثر می‌گذارد و فرآیندهای مهمی مانند فتوسنتز، تعرق، تعادل هورمونی و جذب مواد مغذی را مختل می‌سازد که اگر به‌درستی مدیریت نشود منجر به کاهش کمّی و کیفی محصول خواهد شد (Chen et al., 2025). بااین‌حال، اعمال کم‌آبیاری به‌صورت هدفمند و با استفاده از تکنولوژی‌های نوین می‌تواند به افزایش راندمان آب و کاهش اثرات منفی تنش آبی کمک کند (Tüzel et al., 2024). دراین‌بین، کشت گلخانه‌ای به‌دلیل قابلیت کنترل دقیق شرایط محیطی هم‌چون دما، رطوبت و نور، بستری مناسب برای اجرای برنامه‌های کم‌آبیاری و بهره‌وری بیشتر از منابع آبی فراهم می‌آورد. بااین‌وجود، حتی در حوزه کشت‌های گلخانه‌ای نیز کم‌آبیاری به‌عنوان یک عامل محدودکننده، نیازمند راهکارهای تقویتی و حمایتی است (Chand et al., 2021).

گیاه گوجه‌فرنگی در مواجهه با کم‌آبیاری واکنش‌های زیستی–فیزیولوژیکی مختلفی از خود نشان می‌دهد. این تغییرات شامل تجمع ترکیبات اسمولیتی، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و تنظیم دقیق عملکرد روزنه‌ها است که همگی در جهت حفظ آب و کاهش آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از کم‌آبی عمل می‌کنند (Amankwaa-Yeboah et al., 2023; Locatelli et al., 2024; Mukherjee et al., 2023; Xu et al., 2024). این پاسخ‌ها اگرچه تا حدی از آسیب‌های ناشی از کم‌آبیاری می‌کاهند، امّا به‌تنهایی برای حفظ عملکرد و کیفیت محصول در شرایط کم‌آبیاری کافی نیستند و ازاین‌رو استفاده از محرک‌های رشد طبیعی که بتوانند تحمل گیاه را افزایش دهند، از اهمیت بالایی برخوردار است (Aslani et al., 2019; Najafi et al., 2022). در این زمینه، در سال‌های اخیر اسید هیومیک و اسیدهای آمینه به‌عنوان موادی با اثرات تقویتی بر رشد و مقاومت گیاه مورد توجه فراوان قرار گرفته‌اند. اسید هیومیک با بهبود ساختار خاک، افزایش تخلخل و ظرفیت نگهداری آب در خاک، و همچنین تحریک جذب عناصر غذایی ماکرو و میکرو، عملکرد گیاه در شرایط کم‌آبیاری را بهبود می‌بخشد (Sadeghi Chah-Nasir et al., 2023). کاربرد اسید هیومیک موجب افزایش کلروفیل، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و تجمع پرولین می‌شود که شاخص‌هایی برای ارتقای تحمل کم‌آبیاری هستند (Khorasani et al., 2023; Mehrnia et al., 2024). اسیدهای آمینه نیز با نقش‌های کلیدی خود در فرآیندهای زیستی گیاه همچون تحریک سنتز پروتئین، تنظیم فشار اسمزی سلول، تولید هورمون‌های رشد و کاهش تنش اکسیداتیو، می‌توانند به کاهش اثرات منفی کم‌آبیاری کمک کنند. افزایش جذب عناصر غذایی، بهبود عملکرد روزنه و افزایش رشد و عملکرد گیاه در واکنش به مصرف خارجی اسیدهای آمینه در بسیاری از گونه‌های گیاهی تحت شرایط کم‌آبی گزارش شده است (El-Beltagi et al., 2023; Fayaz et al., 2024).

با توجه به اهمیت کم‌آبیاری به‌عنوان یک راهکار عملی و ضروری در مدیریت منابع آب و همچنین نقش کلیدی اسید هیومیک و اسیدهای آمینه در ارتقای مقاومت گیاه به شرایط کم‌آبیاری، بررسی تأثیر این دو محرک رشد بر گوجه‌فرنگی گلخانه‌ای بسیار حائز اهمیت است. مطالعه اثرات این ترکیب بر شاخص‌های رشدی، کیفی و کمّی محصول می‌تواند زمینه‌ساز ارائه راهکارهای بهینه در مدیریت کشاورزی پایدار و افزایش بهره‌وری منابع آب باشد. بنابراین این پژوهش با هدف ارزیابی اثرات جداگانه اسید هیومیک و اسیدهای آمینه بر ویژگی‌های رشد، عملکرد کمّی و کیفیت میوه گوجه‌فرنگی تحت شرایط کم‌آبیاری در شرایط گلخانه‌ای انجام گرفت. نتایج این مطالعه می‌تواند به توسعه راهبردهای کاربردی برای افزایش تولید پایدار و بهینه‌سازی مصرف آب در محصولات باغبانی کمک کند.

مواد و روش‌ها

محل اجرا و طرح آزمایش

به‌منظور بررسی اثرات اسید هیومیک و اسید آمینه بر رشد و عملکرد گوجه‌فرنگی در شرایط کم‌آبیاری، دو آزمایش مستقل به‌صورت فاکتوریل برپایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل اسید هیومیک در دو سطح (صفر و سه گرم در لیتر) و رژیم آبیاری در دو سطح آبیاری (۱۰۰ درصد و ۷۰ درصد نیاز آبی گیاه) و همچنین اسید آمینه با غلظت‌های صفر و یک گرم در لیتر و رژیم آبیاری در دو سطح آبیاری (۱۰۰ درصد و ۷۰ درصد نیاز آبی گیاه) بود. تیمارهای اسید هیومیک و اسید آمینه به‌روش کودآبیاری اعمال شدند و تیمار شاهد برای هر مکمل، آب مقطر بود.

این آزمایش در گلخانه تجاری بنیاد تعاون سازمان زندان‌های خراسان رضوی واقع در شهر شاندیز اجرا شد و از گوجه‌فرنگی رقم ’ترمه‘ استفاده گردید. ’ترمه‘، رقم هیبرید گوجه‌فرنگی گلخانه‌ای دارای بوته و ریشه قوی با مقاومت فوق‌العاده بالا به بیماری‌های بوته‌میری، کپک خاکستری و ویروس پیچیدگی برگ زرد گوجه‌فرنگی است. این رقم پُربار دارای میوه سفت، خوش‌رنگ و با ماندگاری بالا می‌باشد. کشت به‌صورت غیرمستقیم و در سینی‌های کشت ۱۲۵ سلولی حاوی بستر کوکوپیت و پیت ماس (با نسبت ۵۰:۵۰) انجام گرفت. پس از چهار هفته، نشاها با تراکم دو بوته در هر مترمربع به گروبگ‌های پلاستیکی (با ابعاد ۳۰ × ۴۰ سانتی‌متر) که با پوشش بیرونی روشن (برای جلوگیری از جذب نور و تنش دمایی به ریشه) طراحی شده بودند، منتقل گردید. بستر نهایی گروبگ‌ها، مخلوطی از خاک زراعی و خاک برگ با نسبت ۳ به ۱ بود.

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه مورد مطالعه

Table 1- The soil physico-chemical properties of the studied filed

هدایت الکتریکی EC ($dS.m^{-1}$)	کل مواد خنثی Total neutralizing material (%)	کربن آلی Organic carbon (%)	کل نیتروژن Total nitrogen (%)	اسیدیته Acidity	پتاسیم Potassium ($mg.kg^{-1}$)	فسفر Phosphorus ($mg.kg^{-1}$)	روی Zinc ($mg.kg^{-1}$)	منگنز Manganese ($mg.kg^{-1}$)	آهن Iron ($mg.kg^{-1}$)	مس Copper ($mg.kg^{-1}$)	بافت Texture
2.73	19.10	0.90	0.20	7.73	265.22	13.16	0.70	4.34	5.00	0.50	لومی Loamy

هر گروبگ حاوی ۱۲/۸ کیلوگرم خاک بود که این مقدار خاک دقیقاً برای تمامی گروبگ‌ها یکسان بوده است. در این آزمایش، بذرها در تاریخ ۱۴۰۲/۱۱/۰۱ در سینی نشاء کاشته شد. نشاها در تاریخ ۱۴۰۲/۱۱/۳۰ به گروبگ انتقال داده شد و دوره رشد تا تاریخ ۱۴۰۳/۷/۱۰ به طول انجامید (مدت دوره رشد از کاشت بذر تا پایان دوره حدود هشت ماه طول کشید). آنالیز خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک به‌روش ICP انجام گردید که در جدول ۱ گزارش شده است. لازم به ذکر است که بعد از مخلوط کردن خاک باغچه با خاک‌برگ، آنالیز خاک انجام شد.

تنش خشکی با روش وزنی و براساس محاسبه ظرفیت زراعی (FC) خاک، دو هفته بعد از انتقال نشاها اعمال گردید. پس از اشباع کردن گروبگ و خارج شدن آب ثقلی (۲۴ ساعت پس از آبیاری)، وزن خاک در حالت ظرفیت زراعی کامل تعیین و تیمار آبیاری کامل (شاهد) معادل ۱۰۰ درصد این وزن و تیمار کم‌آبیاری معادل ۷۰ درصد آن در نظر گرفته شد. از اسید هیومیک تجاری (محصول چین دارای ۷۰ درصد اسید هیومیک، ۸۵ درصد ماده آلی، ۱۵ درصد اسید فولویک و ۱۲ درصد پتاسیم محلول) و اسید آمینه تجاری ناتورآمین (محصول اسپانیا حاوی ۸۰ درصد اسیدهای آمینه آزاد و ۱۲/۸ درصد نیتروژن کل) استفاده گردید. تیمارهای اسید هیومیک و اسید آمینه به‌صورت کودآبیاری در سه مرحله از رشد گوجه‌فرنگی شامل دو هفته پس از انتقال نشاء به گروبگ، مرحله شروع گل‌دهی، و مرحله تشکیل میوه اعمال شدند. صفات ریخت‌شناختی، عملکردی و بیوشیمیایی در مرحله رسیدگی میوه گوجه‌فرنگی اندازه‌گیری گردید.

صفات مورد ارزیابی

صفات ریخت‌شناختی

صفات ریخت‌شناختی مورد ارزیابی در پژوهش حاضر شامل طول شاخه اصلی، تعداد و طول میان‌گره ساقه اصلی، سطح برگ، وزن تر و خشک بوته و سطح حجم می‌باشد. طول اصلی‌ترین ساقه هر گیاه از سطح خاک تا انتهای جوانه انتهایی، بلافاصله پس از برداشت و با استفاده از یک متر نواری استاندارد اندازه‌گیری گردید. فاصله بین دو گره متوالی در میانه ساقه اصلی با استفاده از یک کولیس دیجیتال با دقت ۰/۱ میلی‌متر اندازه‌گیری و میانگین گرفته شد. سطح برگ در برگ‌های کاملاً توسعه‌یافته پس از جدا کردن از گیاه، با استفاده از دستگاه سطح‌سنج دیجیتال (Leaf Area Meter, Model CI-202) اندازه‌گیری گردید.

برای تعیین وزن تر و خشک بوته، کل اندام هوایی گیاه بلافاصله پس از برداشت، با استفاده از یک ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۱ گرم توزین شد. وزن خشک بوته نیز پس از قرارگیری در آون با دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت تا حصول وزن ثابت، با استفاده از ترازوی دیجیتال توزین گردید. پس از شست‌وشوی کامل ریشه، حجم ریشه هر گیاه با غوطه‌ورسازی آن در یک استوانه مدرج حاوی آب و اندازه‌گیری میزان آب جابه‌جاشده، تعیین شد.

عناصر غذایی برگ

برای اندازه‌گیری عناصر غذایی پُرمصرف (نیتروژن، فسفر، پتاسیم، کلسیم و منیزیم) و کم‌مصرف (آهن، منگنز و روی) از روش ICP یا آنالیز پلاسمای جفت‌شده القایی–طیف‌سنج نشر نوری استفاده شد. اساس این روش برانگیختگی الکترون‌های عناصر مختلف در محیطی به‌نام پلاسما و نشر نور بعد از حالت آسایش الکترونی است و به‌دلیل تطبیق‌پذیری و تکرارپذیری، می‌توان نتایجی با دقت و صحت بالا به دست آورد.

صفات کمّی و کیفی میوه

صفات عملکردی میوه

تعداد میوه در هر خوشه، وزن میوه و عملکرد میوه در بوته به‌عنوان صفات کمّی میوه گوجه‌فرنگی اندازه‌گیری شد.

صفات کیفی میوه

صفات کیفی مورد ارزیابی میوه شامل سفتی بافت میوه، مواد جامد محلول، اسیدیته، ویتامین C، کاروتنوئیدها و لیکوپن بود که به روش‌های زیر انجام شد.

سفتی بافت میوه: سفتی بافت در دو طرف طول و قطر میوه، با استفاده از دستگاه بافت‌سنج مجهز به پروب مخروطی هشت میلی‌متری اندازه‌گیری و میانگین نتایج براساس کیلوگرم بر سانتی‌مترمربع ثبت گردید.

مواد جامد محلول[1]**:** میزان مواد جامد محلول در عصاره میوه‌های کاملاً رسیده با استفاده از رفرکتومتر دستی برحسب درجه بریکس اندازه‌گیری شد (Fisk et al., 2008).

اسیدیته میوه: pH عصاره میوه‌های با استفاده از pHمتر دیجیتال (Model: HI 98107) اندازه‌گیری گردید (Fisk et al., 2008).

ویتامین C: محتوای اسید آسکوربیک میوه گوجه‌فرنگی براساس روش تیتراسیون با معرف ۲و۶- دی کلروفنول ایندوفنول و برحسب میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر میوه اندازه‌گیری و محاسبه شد (Mukherjee & Choudhuri, 1983).

1- Total soluble solide (TSS)

کاروتنوئیدها: محتوای کاروتنوئید کل پس از استخراج نمونه میوه با حلال استون و قرائت جذب در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر به‌وسیله اسپکتروفوتومتر و برحسب میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم میوه محاسبه گردید (Lichtenthaler, 1987).

لیکوپن: مقدار لیکوپن در عصاره گوجه‌فرنگی براساس روش اسپکتروفوتومتری و پس از استخراج با مخلوط هگزان–استون–اتانول، از طریق قرائت جذب در طول موج ۵۰۳ نانومتر تعیین و برحسب میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم میوه محاسبه شد (Sadler et al., 1990).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

تجزیه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS 21 و مقایسه میانگین داده‌ها براساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد. جهت رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel 2013 استفاده گردید. برآورد همبستگی بین صفات براساس آزمون همبستگی پیرسون انجام شد.

نتایج و بحث

صفات ریخت‌شناختی

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات اصلی تیمارهای کم‌آبیاری و اسید هیومیک بر صفات ریخت‌شناختی (طول شاخه اصلی، طول و تعداد میان‌گره، وزن تر و خشک بوته و حجم ریشه) معنی‌دار شد. همچنین اثر متقابل تیمارها بر همه صفات به‌جز تعداد میان‌گره ساقه اصلی معنی‌دار بود (جدول ۲). در آزمایش اسید آمینه نیز نتایج مشابهی حاصل شد و اثرات اصلی و متقابل کم‌آبیاری و اسید آمینه بر صفات مزبور معنی‌دار شد (جدول ۳). اعمال تیمار کم‌آبیاری (۷۰ درصد ظرفیت مزرعه) باعث کاهش معنی‌دار کلیه صفات رشدی شد. طول شاخه اصلی نسبت به شرایط کم‌آبیاری هفت درصد کاهش یافت. تعداد میان‌گره از ۳۴/۷۵ به ۲۹/۷۵ و طول میان‌گره از ۴/۱۷ به ۳/۵۳ سانتی‌متر کاهش پیدا کرد. سطح برگ در گیاهان رشدیافته تحت شرایط کم‌آبی نیز کاهش محسوسی (۱۳/۵۸ درصد) نشان داد. همچنین کم‌آبیاری باعث کاهش وزن تر و وزن خشک اندام هوایی شد. حجم ریشه نیز از ۳۴/۷۱ به ۳۰/۰۷ سانتی‌مترمکعب کاهش یافت (جدول ۴). اسید هیومیک به‌طور معنی‌داری باعث بهبود تمامی صفات ریخت‌شناختی تحت شرایط آبیاری کامل و تیمار کم‌آبیاری شد. اسید هیومیک نه‌تنها اثرات منفی کم‌آبیاری را جبران کرد، بلکه در بسیاری از موارد باعث ارتقای رشد گیاه فراتر از سطح شاهد (آبیاری کامل) نیز گردید. تحت شرایط کم‌آبیاری، اسید هیومیک طول شاخه اصلی را ۱۳/۱ درصد افزایش داد و طول میان‌گره به ۴/۳۰ سانتی‌متر افزایش یافت. سطح برگ نیز به‌میزان معنی‌داری نسبت به شرایط بدون کودآبیاری بهبود یافت. همچنین در این شرایط وزن تر اندام هوایی به ۲/۴۰ کیلوگرم، وزن خشک اندام هوایی به ۳۶۸/۹۸ گرم و حجم ریشه به ۳۶/۹۱ سانتی‌مترمکعب افزایش پیدا کرد. کودآبیاری اسید آمینه نیز در بهبود صفات رشدی گوجه‌فرنگی گلخانه‌ای در هر دو شرایط آبیاری کامل و کم‌آبیاری مؤثر بود. مقایسه داده‌ها نشان داد که اسید هیومیک در بهبود صفات ریخت‌شناختی برتر از اسید آمینه عمل کرد. در شرایط آبیاری کامل، اسید هیومیک باعث افزایش بیشترین مقدار در طول شاخه اصلی (۴/۳ درصد بیشتر از اسید آمینه)، تعداد میان‌گره (۵/۶ درصد بیشتر) و طول میان‌گره (۴/۱ درصد بیشتر) شد. همچنین در خصوص وزن تر اندام هوایی (۹/۷ درصد بیشتر)، وزن خشک اندام هوایی (۵/۴ درصد بیشتر) و حجم ریشه (۱۲/۸ درصد بیشتر) نیز برتری معنی‌داری نشان داد. در شرایط کم‌آبیاری نیز کارآیی اسید هیومیک در بهبود رشد گوجه‌فرنگی بیشتر از اسید آمینه بود (جدول ۴).

کاهش رشد تحت کم‌آبیاری می‌تواند ناشی از اختلال در تقسیم سلولی، کاهش تورم سلولی و بسته شدن روزنه‌ها باشد که منجر به کاهش فتوسنتز و تولید فرآورده فتوسنتزی می‌شود (Amankwaa-Yeboah et al., 2023; Locatelli et al., 2024). اسید هیومیک با بهبود نفوذپذیری غشای سلولی و افزایش جذب آب و مواد غذایی باعث حفظ تورم سلولی و بهبود فرآیندهای رشد می‌شود (Mehrnia et al., 2024). از سوی دیگر، اسید آمینه‌ها به‌عنوان واحدهای سازنده پروتئین‌ها و پیش‌سازهای هورمونی، به‌طور مستقیم در متابولیسم و رشد گیاه نقش دارند (Elshamly et al., 2024). امّا به نظر می‌رسد که اسید هیومیک با بهبود شرایط فیزیکی و شیمیایی خاک و افزایش دسترسی به مواد غذایی، بستر بهتری برای رشد را نسبت به اسید آمینه‌ها فراهم می‌کند. این نتایج با یافته‌های نجفی و همکاران (Najafi et al., 2022) که به تأثیر مثبت اسید هیومیک بر بهبود رشد رویشی و توسعه سیستم ریشه در شرایط تنش خشکی اشاره داشته‌اند، هم‌خوانی دارد. همچنین نتایج حاضر با پژوهش حیدرزاده (Heidarzadeh, 2025) که نقش اسید آمینه‌ها در بهبود تحمل به کم‌آبیاری را مورد تأیید قرار داده، مطابقت دارد. اگرچه هر دو تیمار کودی در بهبود رشد گوجه‌فرنگی در هر دو شرایط آبیاری کامل و کم‌آبیاری مؤثر بودند، امّا براساس داده‌های این پژوهش (جدول ۴)، اسید هیومیک در مقایسه با اسید آمینه، کارآیی بالاتری در بهبود تقریباً تمامی صفات اندازه‌گیری‌شده نشان داد. این برتری به‌ویژه در صفاتی مانند حجم ریشه و وزن تر اندام هوایی مشهود بود. این امر می‌تواند ناشی از نقش چندجانبه اسید هیومیک در بهبود محیط ریشه و فراهمی هم‌زمان آب و عناصر غذایی باشد (Khorasani et al., 2023; Mehrnia et al., 2024).

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر کودآبیاری اسید هیومیک بر صفات ریخت‌شناختی گوجه‌فرنگی رقم 'ترمه' تحت شرایط کم‌آبیاری

Table 2- Variance analysis of the humic acid fertigation effect on the morphological traits of tomato cv. 'Termeh' under deficit irrigation conditions

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean of squares						
		طول شاخه اصلی Branch length	تعداد میان‌گره No. internodes per stem	طول میان‌گره Internode length	سطح برگ Leaf area	وزن تر اندام هوایی بوته Plant aerial fresh weight	وزن خشک اندام هوایی بوته Plant aerial dry weight	حجم ریشه Root volume
بلوک Block	3	0.217 ns	0.167 ns	0.001 ns	0.755 ns	0.01 ns	4.057 ns	0.09 ns
اسید هیومیک Humic acid (H)	1	2809.53 **	256 **	2.657 **	7208.859 **	0.685 **	15889.23 **	237.083 **
کم‌آبیاری Irrigation (I)	1	1101.908 **	100 **	1.85 **	5107.961 **	0.426 **	7307.258 **	121.055 **
کم‌آبیاری × اسید هیومیک H × I	1	41.796 **	2.95 ns	0.006 *	10.89 **	0.066 **	683.43 **	2.967 **
خطا Error	9	0.143	1.833	0.001	0.796	0.007	6.662	0.035

**: معنی‌دار در سطح یک درصد، *: معنی‌دار در سطح پنج درصد، ns: غیرمعنی‌دار

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

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر کودآبیاری اسید آمینه بر صفات ریخت‌شناختی گوجه‌فرنگی رقم 'ترمه' تحت شرایط کم‌آبیاری

Table 3- Variance analysis of the amino acid fertigation effect on morphological traits of tomato cv. 'Termeh' under deficit irrigation conditions

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean of squares						
		طول شاخه اصلی Branch length	تعداد میان‌گره No. internodes per stem	طول میان‌گره Internode length	سطح برگ Leaf area	وزن تر اندام هوایی بوته Plant aerial fresh weight	وزن خشک اندام هوایی بوته Plant aerial dry weight	حجم ریشه Root volume
بلوک Block	3	0.546 ns	0.729 ns	0.002 ns	14.385 ns	0.012 ns	17.314 ns	0.367 **
اسید آمینه Amino acid (A)	1	1468.039 **	162.562 **	1.884 **	3648.16 **	0.212 **	8559.95 **	69.931 **
کم‌آبیاری Irrigation (I)	1	892.516 **	76.562 **	1.446 **	3763.209 **	0.331 **	5687.422 **	67.035 **
کم‌آبیاری × اسید آمینه A × I	1	9.891 **	1.562 ns	0.006 *	180.231 **	0.112 **	258.406 **	1.194 **
خطا Error	9	0.592	2.118	0.001	6.79	0.008	12.855	0.044

**: معنی‌دار در سطح یک درصد، *: معنی‌دار در سطح پنج درصد، ns: غیرمعنی‌دار

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

جدول ٤- اثرات متقابل کودآبیاری اسید هیومیک × کم‌آبیاری و کودآبیاری اسید آمینه × کم‌آبیاری بر صفات ریخت‌شناختی گوجه‌فرنگی رقم 'ترمه'

Table 4- Interaction effects of humic acid fertigation × deficit irrigation and amino acid fertigation × deficit irrigation on the morphological traits of tomato cv. 'Termeh'

کودآبیاری Fertigation		کم‌آبیاری Irrigation (% FC)	طول شاخه اصلی Branch length (cm)	تعداد میان‌گره No. internodes per stem	طول میان‌گره Internode length (cm)	سطح برگ Leaf area (cm^2)	وزن تر اندام هوایی بوته Plant aerial fresh weight (kg)	وزن خشک اندام هوایی بوته Plant aerial dry weight (g)	حجم ریشه Root volume (cm^3)
اسید هیومیک Humic acid ($g.L^{-1}$)	0	100	191.06±0.38 c*	34.75±1.25 c	4.17±0.04 c	275.18±0.72 c	2.31±0.08 b	348.70±2.66 c	34.71±0.31 c
		70	177.69±0.64 d	29.75±1.70 d	3.53±0.04 d	237.80±1.60 d	1.86±0.11 c	319.03±4.09 d	30.07±0.29 d
	3	100	220.79±0.26 a	42.75±0.95 a	5.02±0.01 a	315.98±0.14 a	2.60±0.10 a	424.79±0.32 a	43.27±0.02 a
		70	200.96±0.10 b	37.75±0.50 b	4.30±0.01 b	281.90±0.13 b	2.40±0.01 b	368.98±0.23 b	36.91±0.11 b
اسید آمینه Amino acid ($g.L^{-1}$)	0	100	191.06±0.38 c	34.75±1.25 b	4.17±0.04 c	275.18±0.72 b	2.31±0.08 a	348.70±2.66 c	34.71±0.31 b
		70	177.69±0.64 d	29.75±1.70 c	3.53±0.04 d	237.80±1.60 c	1.86±0.11 b	319.03±4.09 d	30.07±0.29 c
	1	100	211.78±1.26 a	40.50±1.29 a	4.82±0.02 a	298.67±2.98 a	2.37±0.11 a	403.00±1.82 a	38.35±0.50 a
		70	195.28±0.40 b	36.75±0.95 b	4.25±0.02 b	274.71±4.77 b	2.25±0.04 a	357.25±5.35 b	34.80±0.24 b

* در هر صفت و گروه مقایسه‌شده، تیمارهای با حروف یکسان اختلاف معنی‌داری با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال mk[درصد ندارند.

* Values followed by the same letter in each trait have no significant difference based on Duncan's multiple range test at $p \leq 0.05$.

عناصر غذایی برگ

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات اصلی تیمارهای کم‌آبیاری، اسید هیومیک (جدول ۵) و اسید آمینه (جدول ۶) و همچنین اثر متقابل آن‌ها بر غلظت تمامی عناصر غذایی پُرمصرف و کم‌مصرف اندازه‌گیری‌شده در برگ (به‌جز اثر متقابل بر منیزیم در آزمایش اسید هیومیک و عنصر روی در آزمایش اسید آمینه که غیرمعنی‌دار بود) در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود.

عناصر پُرمصرف

نیتروژن: تنش کم‌آبیاری باعث کاهش ۱۶ درصدی غلظت نیتروژن برگ (از ۴/۹۹ درصد به ۴/۱۹ درصد) گردید. کودآبیاری هر دو ترکیب اثر معنی‌داری بر افزایش مقدار نیتروژن برگ گوجه‌فرنگی داشت. کاربرد اسید هیومیک در شرایط آبیاری مطلوب و کم‌آبیاری، مقدار نیتروژن را به‌ترتیب ۳۰ و ۳۳ درصد افزایش داد. درحالی‌که اسید آمینه مقدار این عنصر را در شرایط آبیاری کامل ۲۳ درصد و در گیاهان تحت تیمار کم‌آبیاری ۱۹ درصد (بازگشت مقدار نیتروژن به ۴/۹۹ درصد) بهبود داد. مقایسه اثرات دو کود حاکی از برتری شش درصدی اسید هیومیک نسبت به اسید آمینه در بهبود جذب نیتروژن می‌باشد (جدول ۷).

فسفر: تحت تأثیر تیمار کم‌آبیاری، غلظت فسفر برگ از ۰/۴۲ به ۰/۳۲ درصد کاهش یافت. کودآبیاری باعث بهبود جذب فسفر به‌ویژه در شرایط کم‌آبیاری شد. اسید هیومیک، این شاخص را در شرایط نرمال و تنش کم‌آبیاری به‌ترتیب ۳۸ و ۶۶ درصد افزایش داد، درحالی‌که اسید آمینه افزایش‌های ۳۰ و ۳۴ درصدی را در این شرایط ایجاد نمود که نشان می‌دهد اسید هیومیک در شرایط تنش ۲۳ درصد برتر از اسید آمینه عمل کرد (جدول ۷).

پتاسیم: مقدار پتاسیم برگ گوجه‌فرنگی از ۳/۷۱ درصد در آبیاری کامل به ۲/۸۱ درصد در شرایط کم‌آبیاری کاهش یافت. اسید هیومیک موجب افزایش ۴۳ درصدی مقدار پتاسیم در شرایط نرمال و ۶۹ درصدی در شرایط تنش شد، درحالی‌که در تیمار اسید آمینه، مقدار افزایش پتاسیم در گیاهان رشدیافته در شرایط آبیاری کامل و کم‌آبیاری به‌ترتیب ۳۸ و ۳۰ درصد بود (جدول ۷).

کلسیم: تنش کم‌آبیاری، مقدار کلسیم برگ گوجه‌فرنگی را ۲۰ درصد نسبت به شرایط آبیاری مطلوب از ۲/۸۵ به ۲/۲۸ درصد کاهش داد و در مقابل کودآبیاری اسید هیومیک و اسید آمینه، نقش مؤثری در بهبود غلظت این عنصر در هر دو شرایط آبیاری داشت. اسید هیومیک، مقدار کلسیم را به‌طور معنی‌داری افزایش داد و افزایش مقدار این عنصر در شرایط کم‌آبیاری بیشتر از سطح شاهد (آبیاری کامل) بود. مقایسه اثر دو ترکیب استفاده‌شده به‌عنوان کودآبیاری بر مقدار کلسیم نشان می‌دهد که اسید هیومیک در شرایط تنش ۱۸ درصد مؤثرتر از اسید آمینه بود (جدول ۷).

منیزیم: کاهش ۱۸ درصدی منیزیم برگ (از ۰/۸۸ به ۰/۷۲ درصد) تحت تأثیر کم‌آبیاری مشاهده شد. مقدار منیزیم در برگ گیاهان رشدیافته در هر دو شرایط آبیاری در واکنش به تیمارهای اسید هیومیک و اسید آمینه افزایش معنی‌داری نشان دادند، اگرچه براساس نتایج تجزیه واریانس، اثر متقابل رژیم آبیاری و اسید هیومیک معنی‌دار نبود. براساس نتایج حاصل، عملکرد دو کود در بهبود منیزیم بسیار نزدیک و بدون اختلاف عمده بود (جدول ۷).

عناصر کم‌مصرف

آهن: کم‌آبیاری اثر معنی‌داری بر کاهش مقدار آهن برگ گیاه گوجه‌فرنگی داشت و موجب کاهش ۲۰ درصدی آهن برگ (۳۱/۸۱ به ۲۵/۵۵ پی‌پی‌ام) گردید. اسید هیومیک و اسید آمینه، مقدار این عنصر را در شرایط آبیاری کامل به‌ترتیب ۱۷ و ۱۰ درصد افزایش داد و در شرایط کم‌آبیاری این افزایش ۳۳ و ۲۴ درصد بود که نشان می‌دهد اسید هیومیک در شرایط کم‌آبیاری هفت درصد برتر عمل کرده است (جدول ۷).

منگنز :کم‌آبیاری، مقدار منگنز برگ را ۱۸ درصد نسبت به شرایط آبیاری مطلوب کاهش داد و تیمارهای کودی استفاده‌شده نیز در بهبود مقدار این عنصر به‌ویژه در شرایط تنش مؤثر بودند (جدول ۷).

روی: مقدار عنصر روی تحت شرایط کم‌آبیاری با کاهش ۱۵ درصدی از ۲۰/۹۴ به ۱۷/۸۵ پی‌پی‌ام رسید. اسید هیومیک، مقدار این عنصر را در شرایط آبیاری کامل و کم‌آبیاری به‌ترتیب ۲۵ و ۲۴ درصد افزایش داد. اگرچه براساس نتایج تجزیه واریانس، اثر متقابل رژیم آبیاری و اسید آمینه بر مقدار عنصر روی معنی‌دار نبود، ولی نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان می‌دهد که در تیمار اسید آمینه، مقدار این عنصر در شرایط عادی و تنش به‌ترتیب ۱۵ و ۱۸ افزایش یافت. نتایج بیانگر آن است که اسید هیومیک در بهبود مقدار عنصر روی در شرایط تنش به‌میزان شش درصد مؤثرتر بود (جدول ۷).

جدول ۵- تجزیه واریانس اثر کودآبیاری اسید هیومیک بر غلظت عناصر غذایی برگ گوجه‌فرنگی رقم 'ترمه' تحت شرایط کم‌آبیاری

Table 5- Variance analysis of the humic acid fertigation effect on the concentration of leaf nutrient elements in tomato cv. 'Termeh' under deficit irrigation conditions

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean of squares							
		نیتروژن N	فسفر P	پتاسیم K	کلسیم Ca	منیزیم Mg	آهن Fe	منگنز Mn	روی Zn
بلوک Block	3	0.003 ns	0.0008 ns	0.022 ns	0.002 ns	0.005 ns	0.108 ns	0.086 ns	0.028 ns
اسید هیومیک Humic acid (H)	1	8.396 **	0.137 **	12.479 **	2.288 **	0.194 **	190.854 **	1173.919 **	92.496 **
کم‌آبیاری Irrigation (I)	1	2.899 **	0.022 **	2.124 **	0.522 **	0.07 **	87.703 **	531.879 **	49.808 **
کم‌آبیاری × اسید هیومیک H × I	1	0.014 **	0.003 **	0.128 *	0.174 **	0.003 ns	9.891 **	1.925 **	0.779 **
خطا Error	9	0.001	0.0006	0.018	0.001	0.001	0.21	0.143	0.021

**: معنی‌دار در سطح یک درصد، *: معنی‌دار در سطح پنج درصد، ns: غیرمعنی‌دار

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

جدول ٦- تجزیه واریانس اثر کودآبیاری اسید آمینه بر غلظت عناصر غذایی برگ گوجه‌فرنگی رقم 'ترمه' تحت شرایط کم‌آبیاری

Table 6- Variance analysis of the amino acid fertigation effect on the concentration of leaf nutrient elements in tomato cv. 'Termeh' under deficit irrigation conditions

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean of squares							
		نیتروژن N	فسفر P	پتاسیم K	کلسیم Ca	منیزیم Mg	آهن Fe	منگنز Mn	روی Zn
بلوک Block	3	0.009 **	0.0002 ns	0.059 ns	0.0009 ns	0.0006 ns	0.161 ns	0.277 ns	0.044 ns
اسید آمینه Amino acid (A)	1	3.744 **	0.056 **	5.085 **	0.714 **	0.216 **	90.44 **	454.01 **	39.47 **
کم‌آبیاری Irrigation (I)	1	3.686 **	0.047 **	5.546 **	1.145 **	0.068 **	90.25 **	401.702 **	37.73 **
کم‌آبیاری × اسید آمینه A × I	1	0.112 **	0.001 *	0.292 **	0.005 **	0.004 **	9.06 **	19.426 **	0.001 ns
خطا Error	9	0.001	0.00005	0.019	0.00009	0.00009	0.114	0.079	0.04

**: معنی‌دار در سطح یک درصد، *: معنی‌دار در سطح پنج درصد، ns: غیرمعنی‌دار

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

جدول ۷- اثرات متقابل کودآبیاری اسید هیومیک × کم‌آبیاری و کودآبیاری اسید آمینه × کم‌آبیاری بر غلظت عناصر غذایی برگ گوجه‌فرنگی رقم 'ترمه'

Table 7- Interaction effects of humic acid fertigation × deficit irrigation and amino acid fertigation × deficit irrigation on the leaf nutrient elements concentration of tomato cv. 'Termeh'

کودآبیاری Fertigation		کم‌آبیاری Irrigation (% FC)	نیتروژن N (%)	فسفر P (%)	پتاسیم K (%)	کلسیم Ca (%)	منیزیم Mg (%)	آهن Fe (ppm)	منگنز Mn (ppm)	روی Zn (ppm)
اسید هیومیک Humic acid (g.L^{-1})	0	100	4.99±0.04 c*	0.42±0.01 c	3.71±0.25 c	2.85±0.01 c	0.88±0.01 c	31.81±0.53 c	66.31±0.66 c	20.94±0.07 c
		70	4.19±0.06 d	0.32±0.01 d	2.81±0.08 d	2.28±0.01 d	0.72±0.01 d	25.55±0.41 d	54.08±0.13 d	17.85±0.11 d
	3	100	6.49±0.02 a	0.58±0.01 a	5.30±0.01 a	3.40±0.07 a	1.07±0.06 a	37.14±0.52 a	82.75±0.21 a	26.19±0.16 a
		70	5.58±0.01 b	0.53±0.01 b	4.75±0.05 b	3.24±0.01 b	0.97±0.06 b	34.03±0.07 b	71.91±0.10 b	22.22±0.20 b
اسید آمینه Amino acid (g.L^{-1})	0	100	4.99±0.04 b	0.425±0.01 b	3.71±0.25 b	2.85±0.01 b	0.88±0.01 c	31.81±0.53 b	66.31±0.66 c	20.94±0.07 b
		70	4.19±0.06 c	0.325±0.01 c	2.81±0.08 c	2.28±0.01 d	0.72±0.01 d	25.55±0.41 c	54.08±0.13 d	17.85±0.11 c
	1	100	6.12±0.06 a	0.5525±0.01 a	5.11±0.19 a	3.24±0.01 a	1.08±0.01 a	35.06±0.08 a	74.76±0.23 a	24.07±0.34 a
		70	4.99±0.04b	0.435±0.01 b	3.66±0.08 b	2.74±0.01 c	0.98±0.01 b	31.81±0.20 b	66.94±0.07 b	21.015±0.14 b

* در هر صفت و گروه مقایسه‌شده، تیمارهای با حروف یکسان اختلاف معنی‌داری با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال 5% درصد ندارند.

* Values followed by the same letter in each trait have no significant difference based on Duncan's multiple range test at $p \leq 0.05$.

براساس نتایج حاصل، تنش کم‌آبیاری موجب کاهش معنی‌دار غلظت تمامی عناصر پُرمصرف و کم‌مصرف در برگ گیاه گوجه‌فرنگی شد. کاهش غلظت عناصر غذایی تحت کم‌آبیاری می‌تواند ناشی از کاهش فعالیت میکروبی خاک، کاهش انتقال از طریق جریان توده‌ای و کاهش جذب فعال به‌دلیل محدودیت انرژی باشد (Chand et al., 2021; Wu et al., 2022). کاربرد اسید هیومیک با تحریک توسعه سیستم ریشه، سطح تماس ریشه با خاک و در نتیجه جذب عناصر را افزایش می‌دهد (Gholami et al., 2019). از سوی دیگر، اسید آمینه‌ها می‌توانند به‌عنوان لیگاندهای طبیعی عمل کرده و با تشکیل کمپلکس با عناصر، قابلیت جذب آن‌ها را بهبود بخشند (Fayaz et al., 2024; Khan et al., 2025). همچنین اسید آمینه‌ها می‌توانند به‌عنوان منبع کربن و انرژی برای ریزجانداران خاکزی عمل کرده و فعالیت میکروبی خاک را افزایش دهند که این امر به‌نوبه خود باعث آزادسازی عناصر غذایی می‌شود (Haghighi et al., 2020). راید و همکاران (Ride et al., 2024) گزارش کردند که اسید هیومیک باعث بهبود جذب عناصر غذایی از طریق افزایش نفوذپذیری غشای سلولی و تحریک فعالیت آنزیم‌های مرتبط با جذب عناصر می‌شود. براساس نتایج حاصل از این پژوهش، اسید هیومیک در مقایسه با اسید آمینه در بهبود جذب و غلظت اکثر عناصر به‌ویژه فسفر، پتاسیم، کلسیم و منگنز برتر بود. این برتری احتمالاً ناشی از نقش اسید هیومیک در بهبود ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک و افزایش قابلیت جذب عناصر است. اگرچه تیمار اسید آمینه نیز به‌دلیل نقش در سنتز پروتئین‌های حامل و کلاته کردن عناصر، اثرات مثبت قابل توجهی در بهبود جذب عناصر غذایی مورد ارزیابی داشت، امّا در پژوهش حاضر این اثر در مقایسه با اسید هیومیک کمتر بود.

صفات کمّی و کیفی میوه

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که در هر دو آزمایش، اثرات اصلی تیمارهای کم‌آبیاری، اسید هیومیک (جدول ۸) و اسید آمینه (جدول ۹) بر بیشتر صفات کمّی و کیفی میوه گوجه‌فرنگی معنی‌دار بود. اثر متقابل کم‌آبیاری × اسید هیومیک بر همه صفات مورد ارزیابی به‌جز تعداد میوه و سفتی میوه معنی‌دار بود. اثر متقابل اسید آمینه و کم‌آبیاری نیز بر عملکرد میوه، مواد جامد محلول، اسیدیته، ویتامین ث، کاروتنوئیدها و لیکوپن معنی‌دار شد، امّا بر تعداد، وزن و سفتی میوه معنی‌دار نبود.

صفات کمّی میوه

تعداد میوه در خوشه: تنش کم‌آبیاری باعث کاهش ۲۹ درصدی تعداد میوه در خوشه در تیمارهای بدون کود گردید. اگرچه اثرات متقابل آبیاری و کودآبیاری بر تعداد میوه معنی‌دار نبود، ولی براساس نتایج مقایسه میانگین، کاربرد اسید هیومیک در شرایط مطلوب آبیاری و تنش به‌ترتیب افزایش ۳۶ و ۵۰ درصدی تعداد میوه را موجب شد. گیاهان تیمارشده با اسید آمینه تحت شرایط آبیاری کامل و کم‌آبیاری به‌ترتیب افزایش ۳۶ و ۴۰ درصدی (بازگشت به شرایط بدون تنش) را نشان دادند (جدول ۱۰).

وزن تک میوه: تحت تأثیر تنش کم‌آبیاری، وزن تک میوه با کاهش شش درصدی از ۱۲۹/۹ گرم به ۱۲۲/۳۸ گرم رسید. اسید هیومیک، این شاخص را در شرایط نرمال و تنش به‌ترتیب ۳۱ و ۲۲ درصد افزایش داد، درحالی‌که اسید آمینه با وجود غیرمعنی‌دار بودن اثر متقابل آن با آبیاری، افزایش‌های ۲۲ درصدی و ۱۸ درصدی در وزن تک میوه را ایجاد نمود (جدول ۱۰).

عملکرد میوه: عملکرد میوه گوجه‌فرنگی تحت تیمار کم‌آبیاری از ۹/۴۵ به ۷/۶۹ کیلوگرم در بوته کاهش یافت. کاربرد اسید هیومیک و اسید آمینه هر دو به افزایش عملکرد منجر شد. در شرایط نرمال، اسید هیومیک، عملکرد را ۲۱ درصد و اسید آمینه آن را ۱۸ درصد افزایش داد. در شرایط تنش، این افزایش برای اسید هیومیک به ۳۱ درصد و برای اسید آمینه به ۲۹ درصد رسید (جدول ۱۰).

صفات کیفی میوه

سفتی بافت میوه: رژیم آبیاری و اسید آمینه تأثیر معنی‌داری بر سفتی بافت میوه نداشت، امّا اسید هیومیک تأثیر مثبتی بر بهبود اندک سفتی میوه گوجه‌فرنگی داشت (جدول ۱۰).

مواد جامد محلول: تحت شرایط کم‌آبیاری، مقدار مواد جامد محلول از ۴/۷۵ به ۳/۳۴ درجه بریکس کاهش یافت. اسید هیومیک، این شاخص را در شرایط نرمال و تنش به‌ترتیب ۲۳ درصد (به ۵/۸۲ درجه بریکس) و ۵۹ درصد (به ۵/۳۰ درجه بریکس) افزایش داد. در شرایط آبیاری کامل، اسید آمینه تأثیر معنی‌داری بر مقدار مواد جامد محلول نداشت، ولی در شرایط تنش به حفظ مواد جامد محلول کمک کرد (جدول ۱۰).

اسیدیته: تنش کم‌آبیاری تأثیر معنی‌داری بر pH میوه نداشت. اسید هیومیک، این شاخص را در شرایط آبیاری مطلوب ۱۲ درصد افزایش داد، درحالی‌که در تیمار اسید آمینه افزایش هفت درصدی را نشان داد (جدول ۱۰).

ویتامین ث: کم‌آبیاری، کاهش ۱۳ درصدی اسید آسکوربیک میوه‌های گوجه‌فرنگی را به دنبال داشت. اسید هیومیک موجب افزایش ۲۴ و ۱۸ درصدی به‌ترتیب در شرایط نرمال و کم‌آبیاری شد، درحالی‌که اسید آمینه، افزایش‌های ۲۱ و ۱۴ درصدی را ایجاد نمود (جدول ۱۰).

جدول ۸- تجزیه واریانس اثر کودآبیاری اسید هیومیک بر صفات کمّی و کیفی میوه گوجه‌فرنگی رقم 'ترمه' تحت شرایط کم‌آبیاری

Table 8- Variance analysis of the humic acid fertigation effect on the quantitative and qualitative traits of tomato cv. 'Termeh' fruit under deficit irrigation conditions

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean of squares								
		تعداد میوه No. fruits per cluster	وزن میوه Fruit weight	عملکرد Fruit yield	سفتی بافت Firmness	مواد جامد محلول TSS	اسیدیته pH	ویتامین ث Ascorbic acid	کاروتنوئیدها Carotenoids	لیکوپن Lycopene
بلوک Block	3	0.25 ns	42.354 ns	0.024 ns	0.435 ns	0.028 *	0.078 **	0.124 ns	0.02 **	0.007 ns
اسید هیومیک Humic acid (H)	1	6.25 **	4585.321 **	19.625 **	3.744 **	9.211 **	0.522 **	268.796 **	1.476 **	2.576 **
کم‌آبیاری Irrigation (I)	1	4.011 **	813.105 **	9.703 **	0.07 ns	3.764 **	0.007 ns	210.83 **	0.073 **	0.017 ns
کم‌آبیاری × اسید هیومیک H × I	1	0.001 ns	181.845 *	0.156 *	0.07 ns	0.801 **	0.111 **	12.532 *	0.017 *	0.189 **
خطا Error	9	0.306	36.018	0.024	0.163	0.004	0.008	2.194	0.002	0.004

**: معنی‌دار در سطح یک درصد، *: معنی‌دار در سطح پنج درصد، ns: غیرمعنی‌دار

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

جدول ۹- تجزیه واریانس اثر کودآبیاری اسید آمینه بر صفات کمّی و کیفی میوه گوجه‌فرنگی رقم 'ترمه' تحت شرایط کم‌آبیاری

Table 9- Variance analysis of the amino acid fertigation effect on the quantitative and qualitative traits of tomato cv. 'Termeh' fruit under deficit irrigation conditions

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean of squares								
		تعداد میوه No. fruits per cluster	وزن میوه Fruit weight	عملکرد Fruit yield	سفتی بافت Firmness	مواد جامد محلول TSS	اسیدیته pH	ویتامین ث Ascorbic acid	کاروتنوئیدها Carotenoids	لیکوپن Lycopene
بلوک Block	3	0.563 ns	5.139 ns	0.024 ns	0.729 ns	0.102 **	0.102 **	0.443 ns	0.018 **	0.015 *
اسید آمینه Amino acid (A)	1	5.062 **	2493.255 **	15.761 **	0.562 ns	0.031 ns	0.031 ns	195.51 **	1.188 **	1.562 **
کم‌آبیاری Irrigation (I)	1	5.062 **	450.607 **	8.97 **	0.563 ns	0.031 ns	0.031 ns	209.598 **	0.081 **	0.106 **
کم‌آبیاری× اسید آمینه A × I	1	0.062 ns	38.409 ns	0.265 **	0.562 ns	0.181 **	0.181 **	12.233 *	0.013 *	0.058 **
خطا Error	9	0.229	28.036	0.024	0.229	0.008	0.008	2.244	0.002	0.003

**: معنی‌دار در سطح یک درصد، *: معنی‌دار در سطح پنج درصد، ns: غیرمعنی‌دار

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

جدول ۱۰- اثرات متقابل کودآبیاری اسید هیومیک × کم‌آبیاری و کودآبیاری اسید آمینه × کم‌آبیاری بر صفات کمی و کیفی میوه گوجه‌فرنگی رقم 'ترمه'

Table 10- Interaction effects of humic acid fertigation × deficit irrigation and amino acid fertigation × deficit irrigation on the quantitative and qualitative traits of tomato cv. 'Termeh' fruit

کودآبیاری Fertigation		کم‌آبیاری Irrigation (% FC)	تعداد میوه No. fruits per cluster	وزن میوه Fruit weight (g)	عملکرد Fruit yield (kg per plant)	سفتی بافت Firmness (kg per cm^2)	مواد جامد محلول TSS (°Brix)	اسیدیته pH	ویتامین ث Ascorbic acid (mg per 100 g)	کاروتنوئیدها Carotenoids (mg per 100 g)	لیکوپن Lycopene (mg per 100 g)
اسید هیومیک Humic acid (g.L^{-1})	0	100	3.50±0.57 b*	129.90±7.41 c	9.45±0.07 c	5.25±0.50 b	4.75±0.05 c	4.25±0.20 c	42.01±1.28 b	2.95±0.06 c	5.34±0.08 d
		70	2.50±0.57 c	122.38±3.48 c	7.69±0.21 d	5.25±0.50 b	3.34±0.04 d	4.37±0.15 bc	36.52±2.09 c	3.15±0.08 b	5.63±0.06 c
	3	100	4.75±0.50 a	170.50±6.45 a	11.47±0.19 a	6.35±0.49 a	5.82±0.13 a	4.77±0.13 a	51.98±0.80 a	3.62±0.09 a	6.36±0.08 a
		70	3.75±0.50 b	149.50±6.45 b	10.11±0.08 b	6.085±0.42 a	5.30±0.13 b	4.57±0.13 b	42.95±0.06 b	3.69±0.08 a	6.21±0.03 c
اسید آمینه amino acid (g.L^{-1})	0	100	3.50±0.57 b	129.90±7.41 c	9.45±0.07 c	5.25±0.50 a	4.25±0.20 b	4.25±0.20 b	42.01±1.28 b	2.95±0.06 c	5.34±0.08 c
		70	2.50±0.57 c	122.38±3.48 d	7.69±0.21 d	5.25±0.50 a	4.37±0.15 ab	4.37±0.15 ab	36.52±2.09 c	3.15±0.08 b	5.63±0.06 b
	1	100	4.75±0.50 a	157.97±1.97 a	11.18±0.19 a	6.00±0.81 a	4.55±0.12 a	4.55±0.12 a	50.75±0.96 a	3.55±0.07 a	6.09±0.10 a
		70	3.50±0.57 b	144.25±4.279 b	9.94±0.08 b	5.25±0.50 a	4.25±0.20 b	4.25±0.20 b	41.76±0.43 b	3.64±0.09 a	6.13±0.05 a

* در هر صفت و گروه مقایسه‌شده، تیمارهای با حروف یکسان اختلاف معنی‌داری با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال 5% درصد ندارند.

* Values followed by the same letter in each trait have no significant difference based on Duncan's multiple range test at $p\leq0.05$.

کاروتنوئیدها: تنش کم‌آبیاری به افزایش هفت درصدی محتوای کاروتنوئیدها منجر شد. اسید هیومیک با افزایش ۲۳ درصدی در شرایط نرمال و ۱۷ درصدی در شرایط کم‌آبیاری، بیشترین تأثیر را بر غلظت کاروتنوئیدها داشت. اسید آمینه نیز با ایجاد افزایش ۲۰ درصدی، اثر مثبت و قابل توجهی بر مقدار کاروتنوئیدهای میوه گوجه‌فرنگی داشت (جدول ۱۰).

لیکوپن: مقدار لیکوپن در میوه گیاهان رشدیافته تحت شرایط کم‌آبیاری، پنج درصد بیشتر از شرایط آبیاری کامل بود. اسید هیومیک، این شاخص را در شرایط نرمال و کم‌آبی به‌ترتیب ۱۹ و ۱۰ درصد بهبود بخشید. اسید آمینه نیز افزایش ۱۴ درصدی مقدار لیکوپن را سبب شد (جدول ۱۰).

کاهش عملکرد و کیفیت میوه گوجه‌فرنگی تحت کم‌آبیاری می‌تواند ناشی از اختلال در فرآیندهای گرده‌افشانی، تلقیح و تشکیل میوه باشد. کم‌آبیاری و تنش خشکی می‌تواند باعث کاهش تولید گرده، کاهش زنده‌مانی و رشد لوله گرده، و تغییر در باز شدن گل‌ها شود. این عوامل منجر به کاهش درصد تلقیح موفق و کاهش تعداد و کیفیت میوه گوجه‌فرنگی می‌شوند. بنابراین، مدیریت آبیاری در مرحله گل‌دهی و قبل از آن برای حفظ عملکرد و کیفیت میوه بسیار حیاتی است (Mukherjee et al., 2023). از طرف دیگر، افزایش کاروتنوئیدها و لیکوپن تحت تنش خشکی می‌تواند یک پاسخ سازگاری برای محافظت از دستگاه فتوسنتزی در برابر تنش ناشی از کم‌آبیاری باشد، زیرا این ترکیبات نقش آنتی‌اکسیدانی قوی دارند (Chen et al., 2025). اسید هیومیک با بهبود جذب عناصر غذایی کلیدی مانند پتاسیم و کلسیم که نقش بسزایی در انتقال مواد فتوسنتزی به میوه، سفتی بافت و کیفیت میوه دارند باعث بهبود صفات کمّی و کیفی می‌شود (Ride et al., 2024; Singh et al., 2017). اسید آمینه‌ها نیز به‌عنوان پیش‌ساز ترکیبات آلی و کوآنزیم‌ها، به‌طور مستقیم در متابولیسم ثانویه و سنتز ترکیبات طعم‌دهنده میوه نقش دارند (Ali et al., 2024). اسید هیومیک با بهبود توسعه سیستم ریشه و افزایش جذب آب و مواد غذایی باعث بهبود تقسیم سلولی و پُر شدن میوه می‌شود (Rostami et al., 2022). از طرف دیگر، اسید آمینه‌ها با تأمین مستقیم واحدهای سازنده پروتئین‌ها و تنظیم سنتز هورمون‌های رشد باعث بهبود رشد و توسعه میوه می‌گردند (Sadeghi Chah-Nasir et al., 2023).

اسید هیومیک و اسید آمینه با تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه باعث افزایش سنتز ترکیبات آنتی‌اکسیدانی به‌ویژه کاروتنوئیدها و لیکوپن در میوه می‌شوند. این نتایج با یافته‌های رستمی و همکاران (Rostami et al., 2022) که گزارش کردند اسید هیومیک با تحریک فعالیت آنزیم‌های دخیل در سنتز کاروتنوئیدها و اسیدهای آلی باعث افزایش محتوای این ترکیبات در میوه می‌شود، هم‌خوانی دارد. همچنین نتایج گزارش‌شده توسط وانگ و همکاران (Wang et al., 2023) نشان دادند که اسید آمینه‌ها می‌توانند با بهبود متابولیسم ثانویه، کیفیت میوه را افزایش دهند، مطابقت دارد.

اگرچه کاربرد هر دو ماده اسید هیومیک و اسید آمینه به بهبود معنی‌دار هر دو دسته صفات کمّی (شامل تعداد میوه، وزن میوه و عملکرد) و کیفی میوه (شامل سفتی بافت، مواد جامد محلول، ویتامین ث، کاروتنوئیدها و لیکوپن) منجر شد، بااین‌وجود میزان اثرگذاری آن‌ها متفاوت بود. به‌طوری که اثر اسید هیومیک در بهبود صفات کمّی و کیفی به‌طور قابل ملاحظه‌ای بیشتر از اسید آمینه بود. این نتایج حاکی از برتری ۱۷/۱ درصدی اسید هیومیک در صفات کمّی و برتری چشمگیر ۴۲/۵ درصدی آن در صفات کیفی میوه گوجه‌فرنگی در مقایسه با اسید آمینه است.

نتیجه‌گیری

این مطالعه به‌وضوح نشان داد که اعمال تیمار کم‌آبیاری (۷۰ درصد ظرفیت مزرعه) تأثیر منفی و معنی‌داری بر تمامی صفات ریخت‌شناختی و عملکرد گوجه‌فرنگی داشت. این کاهش را می‌توان به محدودیت در دسترسی به آب، اختلال در جذب عناصر غذایی، کاهش نرخ فتوسنتز و در نهایت اختلال در متابولیسم و تقسیم سلولی نسبت داد. بااین‌حال، یافته‌های این تحقیق مؤید این است که کاربرد هر دو نوع کود آلی اسید هیومیک (سه گرم در لیتر) و اسید آمینه (یک گرم در لیتر) نه‌تنها این اثرات منفی را به‌طور قابل توجهی خنثی کرد، بلکه در بسیاری از موارد منجر به بهبود شاخص‌های رشدی و کیفی حتی در مقایسه با شاهد (آبیاری کامل بدون کود) نیز گردید. با توجه به نتایج این پژوهش، می‌توان استفاده از اسید هیومیک را به‌عنوان یک راهکار مدیریتی عملی و مؤثر برای کاهش خسارات ناشی از تنش کم‌آبیاری و افزایش کمّی و کیفی محصول گوجه‌فرنگی در حد شرایط مطلوب آبیاری توصیه نمود. استفاده از این کودها به‌ویژه در شرایط محدودیت منابع آب، می‌تواند ضمن حفظ عملکرد و کیفیت محصول، به پایداری سیستم‌های کشاورزی کمک شایانی کند.

References

1. Ali, H., Mahmood, I., Ali, M. F., Waheed, A., Jawad, H., Hussain, S., Abasi, F., Zulfiqar, U., Siddiqui, M. H., & Alamri, S. (2024). Individual and interactive effects of amino acid and paracetamol on growth, physiological and biochemical aspects of *Brassica napus* L. under drought conditions. *Heliyon*, *10*(11), e31544. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e31544
2. Amankwaa-Yeboah, P., Aruna Akoriko, F., Amponsah, W., Yeboah, S., Brempong, M. B., & Keteku, A. K. (2023). Combining deficit irrigation and nutrient amendment enhances the water productivity of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) in the tropics. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, *7*, 1199386. https://doi.org/10.3389/fsufs.2023.1199386
3. Aslani, S., Barzegar, T., & Nikbakht, J. (2019). Effect of humic acid on physiological and biochemical indices and yield of tomato under deficit irrigation. *Journal of Crops Improvement*, *21*(2), 221-232. (in Persian). https://doi.org/10.22059/jci.2019.272278.2137
4. Chand, J. B., Hewa, G., Hassanli, A., & Myers, B. (2021). Deficit irrigation on tomato production in a greenhouse environment: A review. *Journal of Irrigation and Drainage Engineering*, *147*(2), 04020041. https://doi.org/10.1061/(ASCE)IR.1943-4774.0001529
5. Chen, X., Dong, H., Qi, Z., Gui, D., Ma, L., Thorp, K. R., Malone, R., Wu, H., Liu, B., & Feng, S. (2025). Potential deficit irrigation adaptation strategies under climate change for sustaining cotton production in hyper–arid areas. *Agricultural Water Management*, *132*, 109417. https://doi.org/10.1016/j.agwat.2025.109417
6. El-Beltagi, H. S., Abuarab, M. E., Fahmy, M. A., Abdelaziz, S. M., Abdel-Hakim, S. G., Abdeldaym, E. A., & Tawfic, G. A. (2023). Impact of biostimulants based amino acids and irrigation frequency on agro-physiological characteristics and productivity of broccoli plants. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, *51*(4), 13454. https://doi.org/10.15835/nbha51413454
7. Elshamly, A. M., Iqbal, R., Ali, B., Ahmed, I., Akram, M. I., Ali, S., Ditta, A., ÇIĞ, F., Elshikh, M. S., Mustafa, A. E. Z. M., & Hamed, M. H. (2024). Zinc and amino acids improve the growth, physiological, and biochemical attributes of corn under different irrigation levels. *Rhizosphere*, *29*, 100820. https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2023.100820
8. Fayaz, E., Sorooshzadeh, A., & Heidarzadeh, A. (2024). Effect of foliar application of amino acids under water deficit conditions during late-season on yield and yield components of oil rapeseed (*Brassica napus* L.). *Iranian Journal of Field Crop Science*, *55*(1), 139-149. (in Persian). https://doi.org/10.22059/ijfcs.2024.368145.655044
9. Fisk, C. L., Silver, A. M., Strik, B. C., & Zhao, Y. (2008). Postharvest quality of hardy kiwifruit (*Actinidia arguta* 'Ananasnaya') associated with packaging and storage conditions. *Postharvest Biology and Technology*, *47*(3), 338–345. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.07.015
10. Gholami, H., Ghani, A., Raouf Fard, F., Saharkhiz, M. J., & Hazrati, H. (2019). Changes in photosynthetic pigments and uptake of some soil elements by chicory supplied with organic fertilizers. *Acta Ecologica Sinica*, *39*(3), 250-256. https://doi.org/10.1016/j.chnaes.2018.09.003
11. Haghighi, M., Saadat, S., & Abbey, L. (2020). Effect of exogenous amino acids application on growth and nutritional value of cabbage under drought stress. *Scientia Horticulturae*, *272*, 109561. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109561
12. Heidarzadeh, A. (2025). Role of amino acids in plant growth, development, and stress responses: A comprehensive review. *Discover Plants*, *2*, 237. https://doi.org/10.1007/s44372-025-00322-0
13. Khan, S., Iqbal, M. Z., Solangi, F., Azeem, S., Bodlah, M. A., Zaheer, M. S., Niaz, Y., Ashraf, M., Abid, M., Gul, H., Yu, H., Li, Q., Weijie, J., Rizwan, M., & Manoharadas, S. (2025). Impact of amino acid supplementation on hydroponic lettuce (*Lactuca sativa* L.) growth and nutrient content. *Scientific Reports*, *15*(1), 1-9. https://doi.org/10.1038/s41598-025-00294-x
14. Khorasani, H., Rajabzadeh, F., Mozafari, H., & Pirbalouti, A. G. (2023). Water deficit stress impairment of morphophysiological and phytochemical traits of stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) buffered by humic acid application. *South African Journal of Botany*, *154*, 365-371. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2023.01.030
15. Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic bio membranes. *Methods in Enzymology*, *148*, 350-382. https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1
16. Locatelli, S., Barrera, W., Verdi, L., Nicoletto, C., Dalla Marta, A., & Maucieri, C. (2024). Modelling the response of tomato on deficit irrigation under greenhouse conditions. *Scientia Horticulturae*, *326*, 112770. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2023.112770
17. Mehrnia, M., Filizadeh, Y., & Naji, A. (2024). Evaluation the effects of shade and humic acid on the eco-physiological traits of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) under different irrigation regimes. *Journal of Medicinal plants and By-products*, *13*(4), 1026-1036. (in Persian). https://doi.org/10.22034/jmpb.2024.364076.1625

18. Mukherjee, S., Dash, P. K., Das, D., & Das, S. (2023). Growth, yield and water productivity of tomato as influenced by deficit irrigation water management. *Environmental Processes*, *10*, 10. https://doi.org/10.1007/s40710-023-00624-z
19. Mukherjee, S. P., & Choudhuri, M. A. (1983). Implication of water stress-induced changes in the levels of endogenous ascorbic acid and hydrogen peroxide in *Vigna* seedlings. *Journal of Plant Physiology*, *58*, 166-170. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1983.tb04162.x
20. Najafi, M., Arouiee, H., & Aminifard, M. H. (2022). Effects of humic acid and amino acid on some growth traits on super daminus cucumber (*Cucumis sativus* L.) under drought stress. *Journal of Horticultural Science*, *35*(4), 521-533. (in Persian). https://doi.org/10.22067/jhs.2021.61892.0
21. Ride, R. S., Ahmed, S., Monami, S. A., & Sarkar, M. D. (2024). Improvement in growth, yield, and fruit quality of tomato by foliar application of humic and salicylic acids. *Notulae Scientia Biologicae*, *16*(4), 12189. https://doi.org/10.55779/nsb16412189
22. Rostami, M., Shokouhian, A., & Mohebodini, M. (2022). Effect of humic acid, nitrogen concentrations and application method on the morphological, yield and biochemical characteristics of strawberry 'Paros.' *International Journal of Fruit Science*, *22*(1), 203–214. https://doi.org/10.1080/15538362.2021.2022566
23. Sadeghi Chah-Nasir, A., Abootalebi Jahromi, A., Behrooznam, B., Hassanzadeh Khankahdani, H., & Ejraei, A. (2023). Effect of humic acid and amino acid foliar applications on the growth characteristics, yield, and fruit quality of tomato (*Solanum lycopersicom* L.). *International Journal of Horticultural Science and Technology*, *10*(3), 309-318. (in Persian). https://doi.org/10.22059/ijhst.2022.325793.477
24. Sadler, G., Davis, J., & Dezman, D. (1990). Rapid extraction of lycopene and β-carotene from reconstituted tomato paste and pink grapefruit homogenates. *Journal of Food Science*, *55*(5), 1460–1461. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1990.tb03958.x
25. Singh, M., Ameta, K. D., Dubey, R. B., Pareek, S., Meena, N. L., Meena, S., & Lal, S. (2017). Effect of humic acid and micro nutrients on growth and yield of poly house grown capsicum (*Capsicum annum* L.). *Chemical Science Review and Letters*, *6*(22), 1189–1193.
26. Tüzel, Y., Biyke, H., Harouna, O. S., Durdu, T., Tepecik, M., Oztekin, G. B., Tunalı, U., & Gruda, N. S. (2024). Deficit irrigation response and climate resilience of Mediterranean tomato landraces. *Horticulturae*, *11*(1), 74. https://doi.org/10.3390/horticulturae11010074
27. Wang, X., Zhang, Y., Xu, W., Cheng, J., Liu, J., Pei, W., Wang, J., & Chuang, S. (2023). Amino acid fertilizer strengthens its effect on crop yield and quality by recruiting beneficial rhizosphere microbes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *103*(12), 5970-5980. https://doi.org/10.1002/jsfa.12667
28. Wu, W., Liu, M., Wu, X., Wang, Z., & Yang, H. (2022). Effects of deficit irrigation on nitrogen uptake and soil mineral nitrogen in alfalfa grasslands of the inland arid area of China. *Agricultural Water Management*, *269*, 107724. https://doi.org/10.1016/j.agwat.2022.107724
29. Xu, J., Li, X., Wan, W., Zhu, X., Li, C., Zhao, X., Zhao, Y., Pang, S., & Diao, M. (2024). Impact of regulated deficit irrigation on the dynamics of quality changes in processing tomato fruits during ripening. *Agricultural Water Management*, *304*, 109068. https://doi.org/10.1016/j.agwat.2024.109068

Contents

Assessment of Nutrient Elements, Biochemical Compounds, and Antioxidant Activity of the Medicinal Mushroom *Ganoderma lucidum* 367
J. Zandavifard, M. Azizi, M. Darroudi, A. Hosseini

The Effect of Color and Shading Rate of Net Shade on Quantitative and Qualitative Characteristics of 'Rabab' Pomegranate (*Punica granatum* L.) Fruit 383
A. Bonyanpour, F. Esfandiari Bayat

Assessment of Physiological and Morphological Traits in Three Groundcover Species for Urban Green Spaces under Drought Stress 401
M. Ahmadpour, A. Mousavi Bazaz, A. Tehranifar

Rootstock-Scion Interaction: Top-Working of Grapevines (Bidaneh-Sefid Rootstock) by Cleft-Grafting Technique using Foreign Grape (*Vitis vinifera*) Varieties as Scion 415
S. Faraji, S. Karami, S. M. M. Mirfatah

Evaluation of Morphophysiological and Biochemical Characteristics of *Stevia rebaudiana* Bertoni Treated with Proline Nanoparticles and Liquid Fish Waste Fertilizer in Salinity Stress 433
Z. Mahdavi, B. Esmailpour, R. Azarmi

Investigating the Effects of Different Elicitors on Growth and Phytochemical Characteristics of Sage (*Salvia officinalis* L.) under Hydroponic Cultivation System 453
R. Azadi Gonbad, N. Farhadi

Expression Patterns of *OeFAD7* and *OeFAD3* Genes during Fruit Development of Selected Iranian and International Olive (*Olea europaea* L.) Cultivars 467
F. Razeghi-Jahromi, A. Zarei, F. Parvini

Increasing the Shelf Life of Button Mushroom (*Agaricus bisporus*) Using Bio-renewable Nano-Composite Coatings Based on Nano-Chitosan and Nano-Hydroxyapatite 481
Z. Ziaei Ghahnavieh, M. Raji, A. Ehteshamnia, S. S. Sohrabi

Effect of Thidiazuron on the Morphophysiological and Biochemical Characteristics of *Catharanthus roseus* L. under Water Deficit Stress 501
M. Ghasemi Kamalvand, A. Rezaei Nejad, F. Beiranvand, N. Zomorrodi

The Effect of Micronutrient Elements and NPK-Containing Fertilizers on Some Physiological Traits, Quality, and Fruit Yield of Tomato (*Solanum lycopersicum*) under Salinity Stress 523
A. Tobeh, A. Tobeh

Medium Optimization for Callogenesis, Shoot Regeneration and Rooting of *Hypericum perforatum* from Shoot and Leaf Explants 537
N. Afsharzadeh, M. Azizi, L. Samiei

The Effect of Humic Acid and Amino Acid Fertigation on Morpho-Physiological Changes in Greenhouse Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) (cv. Termeh) under Deficit Irrigation Conditions 549
M. Shahriari, H. Aroiee, B. Abedy

Vol. 40 No. 3 Fall 2026

Published by: College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.

Editor in charge: Valizadeh,R.(Ruminant Nutrition) Prof. Ferdowsi University of Mashhad

General Chief Editor: Tehranifar,A. (Horticultural Sciences) Prof. Ferdowsi University of Mashhad

Editorial Board:

Abedi, B.	Horticultural Sciences	Ferdowsi University of Mashhad
Tehranifar,A.	Horticultural Sciences	Ferdowsi University of Mashhad
Shoor, M.	Horticultural Sciences	Prof. Ferdowsi University of Mashhad
Haghighi, M.	Horticultural Sciences	Prof. Isfahan University of Technology
Hassanzadeh Mobini , S	Phytotron Facility Manager	Department of Biology, Faculty of Arts and Science, Queen's University ،Kingston, Canada
Khanizadeh,SH.	Research Scientist	Bioproducts and Bioprocesses, Agriculture and Agri-Food Canada
Khazaei, H	Plant Breeding	Plant Breeding, AVRDC - The World Vegetable Center
Davarynejad, GH.	Horticultural Sciences	Ferdowsi University of Mashhad
M. Rahemi	Horticultural Sciences	Shiraz University
Zamani, Z.	Horticultural Sciences	University of Tehran, Iran
Sharifani, M.M.	Horticultural Sciences	Gorgan University of Agricultural Science & Natural Resources
Azizi, M.	Medicinal Plants	Ferdowsi University of Mashhad
Ebadi,A.	Horticultural Sciences	Tehran University
Fallahi,E.	Horticultural Sciences	Department of Plant Sciences, University of Idaho
Farsi, M.	Plant Breeding and Genetics	Ferdowsi University of Mashhad
Kafi, M.	Floriculture and landscaping	Tehran University
Fujii, Y.	Agricultural	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

Journal of Horticultural Science

(Agricultural Science and Technology)

Vol. 40 No. 3

2026

ISSN:2008-4730

Contents

Assessment of Nutrient Elements, Biochemical Compounds, and Antioxidant Activity of the Medicinal Mushroom *Ganoderma lucidum* 367
J. Zandavifard, M. Azizi, M. Darroudi, A. Hosseini

The Effect of Color and Shading Rate of Net Shade on Quantitative and Qualitative Characteristics of 'Rabab' Pomegranate (*Punica granatum* L.) Fruit 383
A. Bonyanpour, F. Esfandiari Bayat

Assessment of Physiological and Morphological Traits in Three Groundcover Species for Urban Green Spaces under Drought Stress 401
M. Ahmadpour, A. Mousavi Bazaz, A. Tehranifar

Rootstock-Scion Interaction: Top-Working of Grapevines (Bidaneh-Sefid Rootstock) by Cleft-Grafting Technique using Foreign Grape (*Vitis vinifera*) Varieties as Scion 415
S. Faraji, S. Karami, S. M. M. Mirfatah

Evaluation of Morphophysiological and Biochemical Characteristics of *Stevia rebaudiana* Bertoni Treated with Proline Nanoparticles and Liquid Fish Waste Fertilizer in Salinity Stress 433
Z. Mahdavi, B. Esmailpour, R. Azarmi

Investigating the Effects of Different Elicitors on Growth and Phytochemical Characteristics of Sage (*Salvia officinalis* L.) under Hydroponic Cultivation System 453
R. Azadi Gonbad, N. Farhadi

Expression Patterns of *OeFAD7* and *OeFAD3* Genes during Fruit Development of Selected Iranian and International Olive (*Olea europaea* L.) Cultivars 467
F. Razeghi-Jahromi, A. Zarei, F. Parvini

Increasing the Shelf Life of Button Mushroom (*Agaricus bisporus*) Using Bio-renewable Nano-Composite Coatings Based on Nano-Chitosan and Nano-Hydroxyapatite 481
Z. Ziaei Ghahnavieh, M. Raji, A. Ehteshamnia, S. S. Sohrabi

Effect of Thidiazuron on the Morphophysiological and Biochemical Characteristics of *Catharanthus roseus* L. under Water Deficit Stress 501
M. Ghasemi Kamalvand, A. Rezaei Nejad, F. Beiranvand, N. Zomorrodi

The Effect of Micronutrient Elements and NPK-Containing Fertilizers on Some Physiological Traits, Quality, and Fruit Yield of Tomato (*Solanum lycopersicum*) under Salinity Stress 523
A. Tobeh, A. Tobeh

Medium Optimization for Callogenesis, Shoot Regeneration and Rooting of *Hypericum perforatum* from Shoot and Leaf Explants 537
N. Afsharzadeh, M. Azizi, L. Samiei

The Effect of Humic Acid and Amino Acid Fertigation on Morpho-Physiological Changes in Greenhouse Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) (cv. Termeh) under Deficit Irrigation Conditions 549
M. Shahriari, H. Aroiee, B. Abedy